ISSN 1561-9125
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО

№ 6 2019 Том Vol. 32

Advances in Gerontology
Успехи геронтологии

Рабочие места для пожилых
Биология старения
Музыка и долголетие
Гериатрия: дистанционное обучение
Статистика для геронтологов

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

ЦИТОМАКСЫ — НАТУРАЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ

КЛАССИКА ПЕПТИДНОЙ БИОРЕГУЛЯЦИИ

ВЫСОКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ БЕЗ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ И АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

МОСКОВСКИЕ ОФИСЫ
Москва, 1-я улица Ямского поля, д. 24
7 (495) 640-0614 (доб. 1)
1@peptidesco.ru

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ОФИС
СПб., ул. 2-я Советская, д. 4Б, офис 254
7 (812) 640-0614 (доб. 2)
2@peptidesco.ru

НИЖЕГОРОДСКИЙ ОФИС
Н. Новгород, Московское шоссе, д. 29А
7 (831) 260-1291
6@peptidesco.ru

ОФИЦИАЛЬНОЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В ЕВРОПЕ
Латвия, Рига, ул. Альберта, 2-9
+371 675-01-555
help@peptideproduct.eu

PEPTIDES
ПЕПТИДНАЯ КОМПАНИЯ № 1

www.peptidesco.com

УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ
ADVANCES IN GERONTOLOGY

«ЭСКУЛАП» • САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2019

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

ADVANCES in GERONTOLOGY

Volume 32, № 6

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
A V. Arutjunyan (St. Petersburg)
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)
A. L. Ariev (St. Petersburg)
M. F. Ballyzek (St. Petersburg)
V. V. Bezrukov (Kiev, Ukraine)
V. V. Benberin (Astana, Kazakhstan)
I. I. Eliseeva (St. Petersburg)
C. Francheschi (Bologna, Italy)
E. Yu. Golubeva (Arkhangelsk)
N. D. Goncharova (Sochi—Adler)
N. K. Gorshunova (Kursk)
A. N. Il'tnitksy (Polotsk, Blarus)
E. N. Imyanitov (St. Petersburg)
A. N. Khokhlov (Moscow)
T. B. L. Kirkwood (Newcastle, U. K.)
N. G. Kolosova (Novosibirsk)
V. K. Koltover (Chernogolovka)
O. V. Korkushko (Kiev, Ukraine)
E. A. Korneva (St. Petersburg)
G. P. Kotelnikov (Samara)
K. L. Kozlov (St. Petersburg)
A. V. Kulikov (Pushchino)
I. M. Kvetnoy (St. Petersburg)
A. V. Lysenko (Rostov-on-Don)
S. B. Malichenko (Moscow)
A. I. Martynov (Moscow)
O. N. Mikhailova (St. Petersburg)
A. A. Moskalev (Syktyvkar)
V. S. Myakotnikh (Ekaterinburg)
M. A. Paltsev (Moscow)
K. I. Praschayeu (Belgorod)
S. N. Puzin (Moscow)
S. I. S. Rattan (Aarhus, Denmark)
G. S. Roth (Baltimore, USA)
A. V. Sidorenko (Vienna, Austria)
V. P. Skulachev (Moscow)
G. A. Sofronov (St. Petersburg)
A. G. Soloviev (Arkhangelsk)
O. V. Tatarinova (Yakutsk)
J. Vijg (San Antonio, USA)
I. A. Vinogradova (Petrozavodsk)
P. A. Vorobiev (Moscow)
E. G. Zotkin (St. Petersburg)
A. I. Yashin (Durham, USA)

Published since 1997

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

St. PETERSBURG • 2019

Российская академия наук
Отделение физиологических наук
Научный совет по физиологическим наукам
Геронтологическое общество

УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ

Том 32, № 6

Редакционная коллегия:

В. Н. Анисимов (Санкт-Петербург) — главный редактор
В. Х. Хавинсон (Санкт-Петербург) — заместитель главного редактора
Г. А. Рыжак (Санкт-Петербург) — ответственный секретарь
А. В. Арутюнян (Санкт-Петербург)
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)
А. Л. Арьев (Санкт-Петербург)
М. Ф. Баллюзек (Санкт-Петербург)
В. В. Безруков (Киев, Украина)
В. В. Бенберин (Астана, Казахстан)
Я. Вийг (Сан-Антонио, США)
И. А. Виноградова (Петрозаводск)
П. А. Воробьёв (Москва)
Е. Ю. Голубева (Архангельск)
Н. Д. Гончарова (Сочи—Адлер)
Н. К. Горшунова (Курск)
И. И. Елисеева (Санкт-Петербург)
Е. Г. Зоткин (Санкт-Петербург)
А. Н. Ильницкий (Полоцк, Белоруссия)
Е.Н.Имянитов (Санкт-Петербург)
И. М. Кветной (Санкт-Петербург)
Т. Б. Л. Кирквуд (Ньюкасл, Великобритания)
К. Л. Козлов (Санкт-Петербург)
Н. Г. Колосова (Новосибирск)
В. К. Кольтовер (Черноголовка)
О. В. Коркушко (Киев, Украина)
Е. А. Корнева (Санкт-Петербург)
Г. П. Котельников (Самара)
А. В. Куликов (Пущино)
А. В. Лысенко (Ростов-на-Дону)
С. Б. Маличенко (Москва)
А. И. Мартынов (Москва)
О. Н. Михайлова (Санкт-Петербург)
А. А. Москалев (Сыктывкар)
В. С. Мякотных (Екатеринбург)
М. А. Пальцев (Москва)
К. И. Прощаев (Белгород)
С. Н. Пузин (Москва)
С. И. С. Раттан (Орхус, Дания)
Дж. С. Рот (Балтимор, США)
А. В. Сидоренко (Вена, Австрия)
В. П. Скулачёв (Москва)
А. Г. Соловьёв (Архангельск)
Г. А. Софронов (Санкт-Петербург)
О. В. Татаринова (Якутск)
К. Франчески (Болонья, Италия)
А. Н. Хохлов (Москва)
А. И. Яшин (Северная Каролина, США)

Выходит с 1997 г.

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

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2019

Успехи геронтологии. Санкт-Петербург: Эскулап, 2019. Т. 32. № 6. 208 с., ил.

Издается при поддержке Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н. Н. Петрова Минздрава РФ и ООО «Самсон Мед»

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 О.В. Комарова, Н.Ю. Крамер

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

197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, издательство «Эскулап»
Лицензия ИД № 04402 от 29.03.2001 г.

Подписано в печать 31.01.2020 г. Формат бумаги 60×90 1/8. Печать офсетная. Печ. л. 26.

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

© Успехи геронтологии, 2019
© Геронтологическое общество, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Бобровская О. Н.
О стратегических задачах России и опыте Японии в создании рабочих мест для граждан нового возраста трудоспособности: экономико-правовое исследование — 870

Сафонова Ю. А., Глазунова Г. М.
Критерии диагностики и распространенность саркопении у людей пожилого и старческого возраста — 882

Жаринов Г. М., Михальский А. И., Некласова Н. Ю., Анисимов В. Н.
Продолжительность жизни и некоторые причины смерти музыкантов XX века — 889

Девяткин В. А., Муралева Н. А., Колосова Н. Г.
Выявление однонуклеотидных полиморфизмов в ассоциированных с митохондриями генах, способных влиять на развитие гипертрофической кардиомиопатии у преждевременно стареющих крыс *OXYS* — 901

Гутоп Е. О., Дятлова А. С., Линькова Н. С., Орлова О. А., Трофимова С. В., Хавинсон В. Х.
Старение фибробластов кожи: генетические и эпигенетические факторы — 908

Хужахметова Л. К., Теплый Д. Л., Бажанова Е. Д.
Фармакологическая коррекция изменений уровня апоптоза нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса и пинеалоцитов у крыс при старении и стрессе — 915

Ломако В. В.
Лейкоцитарные показатели крови у самцов крыс разного возраста — 923

Никель В. В., Ефремова В. П.
Пролиферативная активность клеток паравазальной соединительной ткани в возрастном аспекте — 930

Пастухов Ю. Ф., Симонова В. В., Шемякова Т. С., Гузеев М. А., Полоник С. Г., Екимова И. В.
Индуктор шаперонов *U*-133 устраняет нарушения сна в модели доклинической стадии болезни Паркинсона у пожилых крыс — 935

Зорина И. И., Фокина Е. А., Захарова И. О., Баюнова Л. В., Шпаков А. О.
Особенности изменений перекисного окисления липидов и активности Na^+/K^+-АТФазы в коре мозга у старых крыс в условиях двухсосудистой церебральной ишемии/реперфузии — 941

Кытикова О. Ю., Новгородцева Т. П., Антонюк М. В., Гвозденко Т. А.
Плазмалогены в патофизиологии и терапии возрастзависимых заболеваний — 948

Воробьева О. В., Фомина А. А., Гималдинова Н. Е.
Иммуногистохимическое исследование тубуловиллезной аденомы толстой кишки у лиц пожилого возраста — 959

Кузьменко Н. В., Плисс М. Г., Галагудза М. М., Цырлин В. А.
Воздействие гипер- и гипотермии на параметры гемодинамики у людей разных возрастных групп: метаанализ — 964

Bobrovskaya O. N.
On the strategic objectives of Russia and Japan's experience in creating jobs for citizens of a new age of working capacity: Economic and legal research

Safonova J. A., Glazunova G. M.
Diagnostic criteria and the prevalence of sarcopenia in the elderly

Zharinov G. M., Mikhalsky A. I., Neklasova N. Y., Anisimov V. N.
Longevity and some reasons of death of musicians of the XX century

Devyatkin V. A., Muraleva N. A., Kolosova N. G.
Assessment of mitochondria-associated genes for single nucleotide polymorphisms linked to the development of hypertrophic cardiomyopathy in the senescence-accelerated *OXYS* rats

Gutop E. O., Diatlova A. S., Linkova N. S., Orlova O. A., Trofimova S. V., Khavinson V. Kh.
Aging of skin fibroblasts: genetic and epigenetic factors

Khuzhakhmetova L. K., Teply D. L., Bazhanova E. D.
Pharmacological correction of alterations of apoptosis of the neurons of the hypothalamus suprachiasmatic nucleus and pinealocytes during aging and stress

Lomako V. V.
Blood leukocyte indices in male rats of different ages

Nickel V. V., Efremova V. P.
Proliferative activity of paravasal connective tissue cells in the age aspect

Pastukhov Yu.F., Simonova V. V., Shemyakova T. S., Guzeev M. A., Polonik S. G., Ekimova I. V.
U-133, a heat shock proteins inducer, precludes sleep disturbances in a model of the preclinical stage of Parkinson's disease in aged rats

Zorina I. I., Fokina E. A., Zakharova I. O., Bayunova L. V., Shpakov A. O.
Features of the changes in lipid peroxidation and activity of Na^+/K^+-ATPase in the brain of the aged rats in the conditions of two-vessel cerebral ischemia/reperfusion

Kytikova O. Yu., Novgorodtseva T. P., Antonyuk M. V., Gvozdenko T. A.
Plasmalogenes in the pathophysiology and therapy of age-specific diseases

Vorobeva O. V., Fomina A. A., Gimaldinova N. E.
Immunohistochemical study of tubulovillosis adenoma tubulovillous intestinal adenoma in the elderly

Kuzmenko N. V., Pliss M. G., Galagudza M. M., Tsyrlin V. A.
Effects of hyper- and hypothermia on hemodynamic parameters in people of different age groups: Meta-analysis

Пушкин А. С.
Персонификация мониторинга острого коронарного синдрома и его исходов у пациентов пожилого и старческого возраста. Сообщение 2. Инвазивные методы диагностики и лечения (обзор)
976
Pushkin A. S.
Personified monitoring of acute coronary syndrome and its outcomes in elderly patients. Report 2. Invasive diagnostic and treatment methods (review)

Нестеров Ю. В.
Возрастные особенности реакции легочной ткани и сурфактанта на гипобарическую гипоксию и гипербарическую гипероксию в эксперименте
985
Nesterov Y. V.
Age features of the reaction of the lung tissue and surfactant to hypobaric hypoxia and hyperbaric hyperoxia in the experiment

Чалисова Н. И., Рыжак Г. А., Зайцева М. А., Александрова М. Л., Краснова А. А., Халаман В. В., Козина Л. С.
Стимулирующее влияние водорастворимой фракции экстракта из бурой водоросли *Fucus vesiculosus* на клеточную пролиферацию в культуре тканей молодых и старых крыс
990
Chalisova N. I., Rizhak G. A., Zayitseva M. A., Alexandrova M. L., Krasnova A. A., Khalaman V. V., Kozina L. S.
Stimulating effect of water-soluble fraction from brown algae *Fucus vesiculosus* extract on cell proliferation in tissue culture of young and old rats

Авдеева И. В., Прощаев К. И., Ильницкий А. Н., Ткаченко Е. В., Носкова И. С.
Оптимизация когнитивной реабилитации пожилого пациента с двигательными нарушениями на основе современных цифровых технологий
996
Avdeeva I. V., Proshchayeu K. I., Ilnitskiy A. N., Tkachenko E. V., Noskova I. S.
Optimization of cognitive rehabilitation of elderly patient with motor disorders on the basis of modern digital technologies

Карташова Е. А., Сарвилина И. В.
О прогностической роли белка фибулина-5 в прогрессировании патологического сосудистого ремоделирования у пациентов с изолированной систолической артериальной гипертензией
1003
Kartashova E. A., Sarvilina I. V.
About the prognostic role of fibulin-5 protein in the progression of pathological vascular remodeling in patients with isolated sistolic arterial hypertension

Попова Е. П., Богова О. Т., Чандирли С. А., Пузин С. Н., Сычев Д. А., Фисенко В. П.
Эффект амиодарона на вариабельность сердечного ритма у пациентов пожилого и старческого возраста с разными формами фибрилляции предсердий
1011
Popova E. P., Bogova O. T., Chandirli S. A., Puzin S. N., Sychev D. A., Fisenko V. P.
Influence of amiodarone on the spectral analysis of heart rate variability in patients with atrial fibrillation elderly and senile age

Деркач А. В., Трофимова С. В.
Современные подходы к лечению пигментного ретинита у пациентов старшей возрастной группы (обзор литературы)
1017
Derkach A. V., Trofimova S. V.
Modern approaches to the retinitis pigmentosa treatment in the older age patients (literature review)

Perna S., Alalwan T. A., Spadaccini D., Al-Thawadi S., Gasparri C., Isu A., Riva A., Alaali Z., Iannello G., Allegrini P., Infantino V., Peroni G., Rondanelli M.
Сравнение биоимпедансного метода диагностики и двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии в оценке конструкции тела у пациентов 65–90 лет
1023
Perna S., Alalwan T. A., Spadaccini D., Al-Thawadi S., Gasparri C., Isu A., Riva A., Alaali Z., Iannello G., Allegrini P., Infantino V., Peroni G., Rondanelli M.
Comparison between Bioimpedance Analysis and Dual-Energy *X*-ray Absorptiometry in assessment of body composition in a cohort of elderly patients aged 65–90 years

Юрова М. Н.
Применение геропротекторных препаратов-ингибиторов *mTOR* в лечении онкологических пациентов
1034
Yurova M. N.
Geroprotective drugs — mTOR inhibitors in the treatment of cancer patients

Гуляев Н. И., Ахметшин И. М., Гордиенко А. В., Куликов А. Н.
Возможности ультразвуковой диагностики саркопении у больных пожилого возраста с хронической сердечной недостаточностью
1039
Gulyaev N. I., Akhmetshin I. M., Gordienco A. V., Kulikov A. N.
The possibilities of ultrasound testing in diagnostics of sarcopenia in older patients with chronic heart failure

Мякотных В. С., Боровкова Т. А., Сиденкова А. П.
Возможности применения дистанционных образовательных технологий в системе подготовки врачей по вопросам геронтологии и гериатрии
1045
Myakotnykh V. S., Borovkova T. A., Sidenkova A. P.
Possibilities of application of remote educational technologies in the training of doctors on gerontology and geriatrics

Вершинина Е. А., Сафарова Г. Л.
О применении методов математической статистики в клинических и экспериментальных исследованиях
1052
Vershinina E. A., Safarova G. L.
On the use of mathematical statistics methods in clinical and experimental studies

Авторский указатель к тому 32 (№ 1–6)
1063
Authors' Index to Vol. 32 (№ 1–6)

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Невыполнение данных требований удлиняет допечатную подготовку текста и ухудшает качество издания.

В журнале публикуются обзоры и оригинальные статьи по основным разделам современной геронтологии: биологии старения, клинической геронтологии, социальным и психологическим аспектам, а также истории геронтологии. Рассматриваются только оригинальные материалы, ранее не публиковавшиеся и не нарушающие авторские права других лиц. При выявлении идентичных текстов одного и того же автора в других печатных и электронных изданиях статья снимается с публикации.

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила.

1. Статья направляется в редакцию в электронном виде по e-mail.
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 $^1/_{10}$—$^1/_8$ 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. Корректура авторам не высылается, а вся дальнейшая сверка проводится по авторскому оригиналу.
7. Количество иллюстративного материала (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) должно быть минимальным (до 7 рисунков). Фотографии должны быть контрастными, рисунки — четкими. Файлы рисунков, фотографий, диаграмм и схем предоставляются вместе со статьей **отдельными файлами 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. Рисунки должны быть также внедрены в текст статьи (в самый конец текста, один за другим, каждый со своей подписью).
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*); автор несет ответственность за правильность библиографических данных.
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. В статье необходимо отразить следующую информацию в виде отдельных разделов:

    а) благодарности (общая информация о любой помощи в проведении работы и подготовки статьи);

б) источники финансирования работы (информация о грантах и любой другой финансовой поддержке исследований);
в) соблюдение этических стандартов (информация о соблюдении стандартов работы с животными; об исследованиях, где в качестве объектов выступали люди);
г) конфликт интересов.

14. В сопроводительном письме авторами должны быть предложены два возможных рецензента с указанием ФИО, должности, научного звания, места работы и адреса электронной почты рецензента. Кроме того, рекомендуется указать 1–2 фамилии рецензентов, кому нежелательно посылать статью.
15. 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**.
16. Публикация статьи в журнале не влечет никаких финансовых отчислений автору.
17. Рукописи, оформленные не в соответствии с указанными правилами, не рассматриваются; оттиски высылаются авторам по электронной почте в формате pdf.
18. Примеры оформления статей — на сайте Геронтологического общества при РАН (www.gersociety.ru), где размещены полные электронные версии журнала в свободном доступе.

Статьи направлять по электронной почте на адреса: aging@mail.ru, mmv_ag@mail.ru

СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ ТЕРМИНОВ

АД — артериальное давление
АДФ — аденозиндифосфорная кислота (аденозиндифосфат)
АКТГ — адренокортикотропный гормон
АЛТ — аланинаминотрансфераза
АМФ — аденозинмонофосфорная кислота (аденозинмонофосфат)
АПФ — ангиотензинпревращающий фермент
АСТ — аспартатаминотрансфераза
АТФ — аденозинтрифосфорная кислота (аденозинтрифосфат)
АФК — активные формы кислорода
ГАМК — гамма-аминомасляная кислота
ГТФ — гуанозинтрифосфорная кислота
ДАД — диастолическое артериальное давление
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
ЕД — единица действия антибиотиков, гормонов, ферментов, витаминов
ЖЁЛ — жизненная ёмкость лёгких
ЖКТ — желудочно-кишечный тракт
ИБС — ишемическая болезнь сердца
ИВЛ — искусственная вентиляция лёгких
ИМТ — индекс массы тела
ИФА — иммуноферментный анализ
КТ — компьютерная томография
ЛЖ — левый желудочек
ЛДГ — лактатдегидрогеназа
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
ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения
ОРВИ — острая респираторно-вирусная инфекция
ПОЛ — перекисное окисление липидов
ПТГ — паратиреоидный гормон (паратгормон)
ПЦР — полимеразная цепная реакция
РНК — рибонуклеиновая кислота

САД	—	систолическое артериальное давление
СКФ	—	скорость клубочковой фильтрации
СОД	—	супероксиддисмутаза
СОЭ	—	скорость оседания эритроцитов
С-РБ	—	*С*-реактивный белок
ТТГ	—	тиреотропный гормон
УЗДГ	—	ультразвуковое допплеросонографическое исследование сосудов головного мозга
УЗИ	—	ультразвуковое исследование
ФВ	—	фракция выброса
ФК	—	функциональный класс (по классификации *NYHA*)
ХОБЛ	—	хроническая обструктивная болезнь лёгких
ХПН	—	хроническая почечная недостаточность
ХСН	—	хроническая сердечная недостаточность
ЦИК	—	циркулирующие иммунные комплексы
ЦНС	—	центральная нервная система
ЧСС	—	частота сердечных сокращений
ЭКГ	—	электрокардиограмма
эхо-КГ	—	эхокардиографическое исследование
ЭЭГ	—	электроэнцефалография

мес	—	месяц
мин	—	минута
млн	—	миллион
млрд	—	миллиард
мм рт. ст.	—	миллиметр ртутного столба
нед	—	неделя
с	—	секунда
с.	—	страница
сут	—	сутки
тыс.	—	тысяча
уд/мин	—	ударов в минуту
ч	—	час

Ig	—	иммуноглобулины [5 классов: *IgA, IgD, IgE, IgG, IgM*]
IL	—	интерлейкин
M±m	—	доверительный интервал
NYHA	—	Нью-Йоркская ассоциация кардиологов
pH	—	водородный показатель
PCNA	—	ядерный антиген пролиферирующих клеток
TNF-α	—	фактор некроза опухоли α
TNM	—	Международная онкологическая классификация (при обозначении стадий цифры пишутся на уровне строки: *T*3*N*1*M*0)

Обычные аминокислоты, входящие в состав белков:

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

© О. Н. Бобровская, 2019
УДК 331.538.4

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 870–881

О. Н. Бобровская

О СТРАТЕГИЧЕСКИХ ЗАДАЧАХ РОССИИ И ОПЫТЕ ЯПОНИИ В СОЗДАНИИ РАБОЧИХ МЕСТ ДЛЯ ГРАЖДАН НОВОГО ВОЗРАСТА ТРУДОСПОСОБНОСТИ: ЭКОНОМИКО-ПРАВОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, e-mail: uracadem@yandex.ru

Увеличение длительности трудовой деятельности не может не повлечь за собой последствий, объективно отражающих реалии рынка труда для категории работников предпенсионного возраста. Анализ ситуации, сложившейся на рынке труда в современных экономических реалиях, позволяет выделить глобальную проблему получения и сохранения работы для категории работников возраста 50+. О перспективах ее нарастания к окончанию переходного периода изменения пенсионного возраста говорят специалисты разных отраслевых направлений. Вместе с тем, в настоящее время отмечается увеличение числа лиц, находящихся в активном поиске работы и не имеющих шансов в трудоустройстве как бесперспективные работники для интересов работодателя. Предпринимаемые попытки решения проблемы обеспечения рабочими местами работников старшего возраста на государственном уровне оцениваются как малоэффективные и не способные кардинально повлиять на улучшение защиты прав людей от безработицы и нуждаемости. Обращаясь к опыту Японии, имеющей многие пересечения в законодательном и социальном аспектах в решении задач создания и сохранения рабочих мест для работников старшего возраста с Россией, определим возможные перспективы решения данной проблемы как важной стратегической задачи государства.

Ключевые слова: новый возраст трудоспособности, рабочие места, гарантии трудоустройства для предпенсионеров, программы переподготовки и обучения

В научных исследованиях современных экономистов достаточно часто упоминается проблема затяжного экономического кризиса. Вместе с тем, кризисные процессы затрагивают, прежде всего, рынок труда и занятости — проблемы снижения реальных доходов населения, сокращения рабочих мест, дискриминации по возрасту. В указанной сфере отмечается устойчивая отрицательная динамика, недостаточность средств инструментального и методического характера для их разрешения. Показатели инфляции продолжают оставаться низкими, не превышая 4,7 % в год; объем ФНБ достиг к 1 августа 2019 г. максимальных значений, составив 7 867,70 млрд руб. [28]; МВФ отмечает увеличение ВВП до 1,2 % годовых [22].

В этой связи можно говорить о необходимости системных преобразований в регулировании рынка труда, о демографическом сдвиге и его последствиях, о переориентации рынка труда в сторону современных реалий, о важности выполнения задач создания и сохранения рабочих мест для определенных категорий граждан, нуждающихся в особой защите, о доступности программных продуктов профессиональной подготовки граждан нового возраста трудоспособности.

Представляется, что с момента изменения законодательства [54] прошло еще мало времени, и официальные службы не готовы предоставить данных фактического трудоустройства предпенсионеров по любым основаниям. В этой связи мы рассмотрим данные частных рекрутинговых компаний, а также вероятные прогнозы и оценки новых рисков на рынке труда, подготовленные экспертами разного уровня, касающихся возрастной категории работников 50+.

Перспектива вынужденного продолжения трудовой деятельности определяет одновременно две государственные задачи, требующие продуманного решения: социального обеспечения лиц, утративших способность к труду по состоянию здоровья, но не соответствующих критериям групп инвалидности, а также создания рабочих мест для лиц предпенсионного возраста, которые лишены права на получение пенсии в прежнем порядке. Каждая задача требует глубокого осмысления. Вместе с тем, задача социального обеспечения предпенсионеров решается лишь через категорию «безработного» с особым статусом. Никаких новых

подходов к возможным элементам защиты нездоровых пожилых людей без группы инвалидности, обязанных работать дольше прежнего, в законодательстве не выявляется. Незначительный сдвиг в решении второй задачи, связанной с созданием рабочих мест для лиц нового возраста трудоспособности, свидетельствует о недостаточной оценке ее важности со стороны общества и государства. Вместе с тем, промедление в решении каждой из них через несколько лет поставит более сложные задачи спасения людей, попавших в сложную жизненную ситуацию, с непредсказуемым результатом и необходимостью дополнительного финансирования.

Обратимся к данным статистики для формирования объективной картины исследования.

До увеличения пенсионного возраста средняя продолжительность работы на пенсии в России составляла 6,3 года [37]. При этом большинство женщин, достигших порога 55 лет, оформляли пенсию по старости, около 12 % женщин выходили на пенсию досрочно по сокращению штатов или по инвалидности. Более 32,4 % мужчин выходили на пенсию досрочно в возрасте 58 лет, около 50 % полностью прекращали трудовую деятельность к 60 годам.

Из представленных данных можно выявить, что более 61 % людей, достигших прежних возрастных порогов выхода на пенсию, работу не искали, прежде всего в связи с неудовлетворительным состоянием здоровья.

А. Сафонов, специалист в сфере экономики труда, подчеркивает, что пенсионная реформа не способствует продолжению трудовой активности пожилых, а лишь подталкивает к поиску вариантов более раннего выхода на пенсию по инвалидности либо в связи с уходом за инвалидами I группы (на основе результатов исследования Института медицины труда о наличии хронических заболеваний более чем у 50 % граждан по достижению 50 лет) [13].

Об отсутствии демографических оснований, связанных с продолжительностью жизни и здоровья населения, говорит А. Г. Вишневский [4].

Ряд экономистов, исследующих проблему занятости людей старшего возраста, указывают на два фактора, отражающих специфику занятости пожилых: на сформировавшийся тренд отсутствия подходящей работы для лиц старше 50 лет — около 18 % из них числятся безработными, доля женщин из них составляет 45 %, а также на шестилетний период занятости после выхода на пенсию для женщин [45].

Таким образом, очевидным становится тот факт, что удлинение периода трудовой деятельности сведет к нулю период работы после достижения пенсионного возраста. При этом основным мотивом к сохранению трудовой деятельности для населения предпенсионного возраста остается потребность в основном и, нередко, единственном источнике средств к существованию.

Однако такая картина более характерна для женщин, нежели для мужчин, которые и в прежние времена едва дотягивали до границ 60-летия.

М. Л. Агранович в комплексном исследовании, посвященном оценке шансов на занятость у пожилых соискателей [1], оперирует следующими данными:

• сокращение рынка труда более всего затронуло мужчин старше 50 лет — они вынуждены заниматься традиционно женской работой в торговле и сфере услуг либо заниматься работой низкой квалификации;

• шансы на занятость для мужчин старше 50 лет падают по мере снижения уровня образования;

• у работников предпенсионного возраста шансы на занятость имеют только женщины с высшим образованием.

Следует присоединиться к мнению специалистов, утверждающих, что среди разнообразия женских жизненных стратегий доминирует стратегия выживания, связанная с высоким риском бедности для подавляющего большинства женщин, что приводит к вынужденной трудовой занятости [49].

Более того, В. Н. Барсуков, исследуя рынок труда, утверждает, что существенный прирост численности людей нового возраста трудоспособности приведет к сокращению предложения на рынке труда, увеличению демографической нагрузки на трудоспособное население, увеличению дефицита пенсионного фонда [2].

Вместе с тем, одной из самых актуальных и социально острых проблем является проблема отсутствия вакансий для предпенсинеров, отказ работодателей от рассмотрения резюме пожилого соискателя. Задержка в решении задач содействия в занятости лиц предпенсионного возраста в ближайшей перспективе усилит проблему их физического выживания.

Об этом свидетельствуют рекрутинговые компании, занимающиеся подбором персонала для различных сфер [11].

Так, генеральный директор международного рекрутингового агентства Kelly Services Е. Горохова отмечает: резюме специалиста 45+, как правило, остается невостребованным, несмотря на хорошее образование, знание языков и профессионализм. При этом большинство кандидатов предпенсионного возраста согласны работать в режиме полного рабочего времени, не претендуя на льготы.

Руководитель финансовой практики рекрутинговой компании Antal Russia А. Воскресенская обращает внимание на сложившуюся тенденцию: за последние 10 лет ограничение возраста найма в большинство компаний увеличилось с 35 до 45 лет. Выше этого возраста трудоустройство невероятно затруднено. В среднем трудоустраивается не более 1 % соискателей старше 50 лет в год.

Руководитель департамента социального развития аппарата Федерации независимых профсоюзов России К. Добромыслов указывает: несмотря на ряд важных положений национального законодательства о защите прав лиц предпенсионного возраста, международные организации, проводящие анализ состояния рынка труда в РФ, отмечают отсутствие судебной статистики по проблемам возрастной дискриминации в сфере труда. Вместе с тем, она, очевидно, имеет место. Спецификой трудоустройства в настоящее время является самостоятельный отбор кадровой службой организации резюме соискателей. Доказать факт дискриминации по возрасту возможно лишь при использовании особых средств фиксации переговоров. Однако специалисты старшего возраста даже не приглашаются на собеседование, а сама вакансия закрывается любым работником более молодого возраста, нередко в ущерб работе.

По мнению экономиста А. Сафонова, бремя доказывания отсутствия возрастной дискриминации должно лежать на работодателе, а не работнике. В этой связи он считает необходимым внести соответствующие изменения в ст. 13.11.1. «Распространение информации о свободных рабочих местах или вакантных должностях, содержащей ограничения дискриминационного характера» КоАП РФ [18]. Вместе с тем, никакие поправки в КоАП РФ, в том числе увеличивающие ответственность работодателя, не устранят проблему возрастной дискриминации. Запрет на публикацию объявлений о вакансиях с ограничением возраста давно неэффективен, поскольку работодатель осуществляет подбор персонала по своему выбору и в своем интересе, который редко направлен в сторону наименее защищенных категорий работников.

Но не только введение санкций является важной составляющей изменения подходов к созданию рабочих мест для лиц старшего возраста. Так, по мнению А. Репника, предпринимателя необходимо мотивировать экономически. Например, в настоящее время отчисления за каждого сотрудника в ПФР составляют 22 % от зарплаты работника. Эти выплаты можно полностью отменить за каждого трудоустроенного пенсионера и вдвое сократить за каждого трудоустроенного предпенсионера [3].

Кроме того, рынок труда в специфике создания рабочих мест для людей старшего возраста зависим от ряда объективных факторов. Так, по данным аудиторско-консалтинговой компании FinExpertiza, в 2018 г. в России было открыто более 290 тыс. предприятий, а прекратили свою деятельность свыше 600 тыс. компаний. Число закрывшихся за год предприятий превысило число открывшихся в 2,14 раза [55]. Представляется, что в данных условиях потенциального работодателя менее всего интересует контингент старшего возраста. Модернизация производства и характер сферы обслуживания, в которых функционирует большинство предприятий, ориентировано на молодых работников.

В настоящее время задачи трудоустройства предпенсионеров решаются посредством комплексных актов, объединяющих все возможные категории соискателей работы, нуждающихся в содействии, от несовершеннолетних до освободившихся после отбывания наказания из мест лишения свободы. Так, Закон Санкт-Петербурга от 27 февраля 2019 г. № 104–21 «О резервировании рабочих мест для трудоустройства граждан, испытывающих трудности в поиске работы» [10] обязывает работодателя, у которого среднесписочная численность работников превышает 1 тыс., резервировать два рабочих места для работников восьми категорий, где категория работника предпенсионного возраста перечислена среди прочих без особого статуса и льгот.

Сложно представить конкуренцию между соискателями из числа молодых 18–20 лет после получения среднего профессионального образования и предпенсионерами при сохранении за работодателем выбора наиболее подходящих кандидатов из соискателей вакансий. Совмещение в одном нормативно-правовом акте всех нуждающихся в работе и испытывающих сложности в трудоустройстве говорит лишь о формализме такого подхода, несмотря на установку информирования о ва-

кансиях служб занятости и заключении трудовых договоров с соискателями.

И если ранее общественный резонанс вызывали данные Росстата по уровню бедности детей (по состоянию на 2017 г., до 26 % детей до 18 лет живут в семьях с уровнем доходов ниже прожиточного минимума) [38], то начиная с 2024 г. и далее мы увидим неутешительную статистику бедности предпенсионеров.

По оценке Министерства труда РФ, в 2019 г. зарегистрировано 92 тыс. человек безработных предпенсионного возраста, и начиная с 2020 г. этот показатель будет возрастать, превышая данные за 2019 г. в 1,6 раза [21].

Однако некоторые экономисты дают еще более тяжелый прогноз. Увеличение численности мужчин и женщин нового возраста трудоспособности достигнет к 2023 г. 9,4 млн и в последующие годы будет колебаться в диапазоне 8,5—9,5 млн человек. Дополнительное вовлечение предпенсионеров в состав рабочей силы составит около 5 млн человек, — прогнозирует экономист А. Кашепов [15].

Ряд экономистов прогнозируют отсутствие подходящей работы на длительном этапе у 10—12 % лиц предпенсионного возраста [12]. Утратив право на получение пенсии, лица предпенсионного возраста, составляющие 6—7 % от общего объема граждан России, могут оказаться одними из самых бедных слоев общества.

Так, выступая на конференции, проводимой Высшей школой экономики в апреле 2019 г. с докладом «Анализ влияния повышения пенсионного возраста на уровень бедности» [16], эксперты РАНХиГС отмечали, что за 10-летний период переходного этапа пенсионной реформы уровень бедности граждан предпенсионного возраста достигнет критической отметки, поскольку снижение их доходов может достичь к 2028 г. 36 % от величины прожиточного минимума трудоспособного населения (11 653 тыс. — 4 195 тыс. = 7 458 тыс. руб. реальных располагаемых доходов) [35].

И даже мера, предусмотренная статьей 34.2. Закона РФ 19.04.1991 г. № 1032—1 «О занятости населения в РФ» [9], о начислении с января 2019 г. для лиц предпенсионного возраста пособия в размере МРОТ (11 280 руб.) [53], не способна улучшить ситуацию, поскольку по общему правилу пособие выплачивается лишь один год с момента постановки на учет в качестве безработного и включает ряд условий, при которых размер пособия может сократиться до минимума (1 500 руб.) [36].

Вместе с тем, Стратегией долгосрочного развития пенсионной системы РФ [42] предусмотрено обеспечение среднего размера трудовой пенсии по старости не менее 2,5—3 прожиточных минимумов пенсионера [52], что составляет более 26 тыс. руб.

Сопоставив эти параметры, трудно представить, при каких условиях пенсионное обеспечение достигнет указанного уровня. Однако более насущным становится вопрос выживания при низком доходе.

Как правильно замечено А. Р. Сардарян, «...потенциальный сотрудник вынужден соглашаться с невыгодными для него условиями работодателей в связи со страхом потери рабочего места. Начиная с 2016 г. наблюдается тенденция снижения спроса на персонал, сокращения числа вакансий. Специалисты все чаще говорят не о рынке труда, а о „рынке кандидатов"» [46].

Преобразования законодательства, повлекшие продление периода трудовой деятельности, требуют новых подходов и решений. Одним из них является необходимость целенаправленной подготовки граждан предпенсионного возраста для рынка труда с гарантией трудоустройства и сохранения рабочих мест.

17 мая 2019 г. в Ростове-на-Дону прошло совещание правительства [29] при участии специалистов, занимающихся проблематикой сохранения активного долголетия граждан, по вопросу о ходе реализации федерального проекта «Старшее поколение» национальной программы «Демография» [30]. Совещание, в частности, затронуло специальные программы переподготовки для лиц предпенсионного возраста, направленные на сохранение их занятости, а также на освоение некоторых новых простых навыков, способствующих их трудоустройству.

Выступая с докладом, Л. Овчарова, в частности, отмечала важность не столько самого процесса реализации мер, сколько их результата.

М. Морозова в ходе выступления обратила внимание присутствующих на необходимость связи идей программы с ее конечными потребителями.

Вероятность решения проблем трудоустройства людей нового возраста трудоспособности одним лишь переобучением достаточно низка. Но, вместе с тем, такую практику следует признать правильной и своевременной, требующей детальной проработки и закрепления прав гарантированного трудоустройства обучившихся предпенсионеров в законодательстве.

О программах переподготовки и получения дополнительных навыков для лиц предпенсионного возраста

Специальная программа профессионального обучения граждан предпенсионного возраста была принята как одна из мер по защите прав граждан, оказавшихся в сложной ситуации потери или активного поиска работы в связи с увеличением пенсионного возраста. Поставленная задача подготовки кадров для различных областей народного хозяйства должна способствовать занятости лиц пожилого возраста, исключая возрастную дискриминацию и создавая благоприятные условия для продолжения трудовой активности.

Финансовое обеспечение мер Программы осуществляется за счет средств федерального бюджета для реализации федерального проекта «Старшее поколение» национальной программы «Демография» [51]. Средняя стоимость одного курса обучения составляет 33 тыс. руб. [14].

Участниками программы [43] могут стать граждане предпенсионного возраста (граждане в течение 5 лет до наступления возраста, дающего право на страховую пенсию по старости, в том числе назначаемую досрочно), самостоятельно обратившиеся в службу занятости, лица, не имеющие работы, или по направлениям от работодателей на переподготовку для сохранения работы. Обучение завершается экзаменом, по итогам которого гражданам выдают документы о квалификации: удостоверение о повышении квалификации и (или) диплом о профессиональной переподготовке.

От начала запуска программы с апреля 2019 г. и до конца 2024 г. планируется подготовить не менее 450 тыс. специалистов предпенсионного возраста, востребованных рынком труда, как состоящих в трудовых отношениях, так и ищущих работу. Компенсация затрат образовательной организации на реализацию данной программы связана лишь с полным ее освоением лицами предпенсионного возраста. Таким образом, получение диплома или удостоверения ставит точку в работе службы занятости. Ответственность за трудоустройство возлагается на соискателя вакансии.

В случае, когда обучение или переподготовка реализуется через заявку работодателя в отношении работников предпенсионного возраста, связанных с ним трудовыми отношениями, работодатель вправе получить компенсацию за данных работников при условии сохранения занятости конкретных работников после обучения или переподготовки. Орган государственной власти субъектов РФ в сфере труда и занятости намерен проводить мониторинг трудоустройства и закрепления на рабочих местах, начиная с III квартала 2019 г.

В документе не определены параметры таких проверок по количеству и регулярности их проведения. На практике мониторинг сведется к формальной констатации трудоустройства по заявке, без гарантий сохранения рабочего места, поскольку ответственность работодателя связана лишь с необоснованностью увольнения лица, достигшего предпенсионного возраста. Проверка соответствия рабочего места и условий труда вакансии работодателя документом не предусмотрена.

Программа обучения лиц предпенсионного возраста началась практически одновременно во многих субъектах РФ. На уровне Москвы пилотный проект запущен для реализации до конца 2019 г., обучение коснется 3,6 тыс. граждан предпенсионного возраста [34]. В Подмосковье, по предварительным оценкам Минсоцразвития, в 2019 г. такое обучение пройдут более 1,9 тыс. человек [27]

Подводя первые итоги обучения и переподготовки граждан предпенсионного возраста за 2019 г., министр труда М. Топилин признал недостаточным темп реализации данной программы, поскольку вместо запланированных 75 тыс. в год переподготовку прошли лишь 3,5 тыс. человек [20].

При этом очевидно, что, установив ограничения по возрасту (не менее чем за 1 год до выхода на пенсию) и не допуская к программе лиц предпенсионного возраста, признанных безработными, Министерство труда РФ изначально свело задачу реализации такой программы к неэффективному минимуму. Граждане, которые проявили интерес к программе, не соответствовали условиям отбора: программа обучения составляет около 3 мес, но уже за год до достижения пенсионного возраста предпенсионер в ней не участвует; безработным предлагаются региональные программы из стандартного набора переподготовки, без гарантий трудоустройства и отсутствия ориентации специальностей, востребованных рынком труда.

Кроме того, представляется, что программа переподготовки или обучения рассчитана на усвоение отдельных компетенций, а не полного курса обучения с освоением новой специальности. По итогам экзамена выдается сертификат. Исходя из заданных условий, при несданном экзамене сертификат обучившемуся не выдается и трудоустройство не гарантируется. При этом формально полный

курс обучения должен завершиться либо сохранением рабочего места, либо предоставлением нового, с учетом переподготовки. Для получения компенсации из бюджета работодатель предоставит рабочее место работнику. При этом ни один проверяющий орган не вправе обязать работодателя сохранять рабочее место за предпенсионером, при недостаточности его компетенции, на весь период до достижения последним возраста выхода на пенсию. Таким образом, увольнение, в том числе по основаниям, предусмотренным ст. 81 ТК РФ, является законной мерой в руках работодателя.

Другим фактором низкой востребованности новой программы становится невозможность освоения новой специальности за 3 мес. Освещая детали новой программы, О. Синявская подчеркивала, что максимальный запрос на переподготовку исходит от лиц предпенсионного возраста, потерявших работу в связи с несоответствием их квалификации или навыков требованиям к занимаемой должности [14].

В таком случае данная программа фактически не работает, поскольку для новых направлений подготовки предусмотрен более длительный срок: например, подготовка медицинской сестры составляет 2 года 10 мес [24], подготовка специалиста по предоставлению парикмахерских услуг составляет 288 ч (4–6 мес) [25]. Таким образом, речь может идти лишь о повышении квалификации по уже имеющимся специальностям. При этом логично предположить, что при глобальном дефиците медицинских сестер даже пожилая сотрудница, скорее всего, сохранила бы работу. Краткосрочный курс подготовки младшего медицинского персонала останется невостребованным в силу специфики деятельности: поднимать тяжелобольных для смены белья или несколько раз за смену мыть полы в большом отделении медицинской организации способны немногие.

Если обратиться к содержанию программ обучения и переподготовки предпенсионеров, включение некоторых из них вызывает удивление. Например, в соответствии с общероссийским классификатором занятий [26], «няня» и «помощник воспитателя» отнесены к работникам по уходу за детьми. Профессиональный стандарт специальности «няня» [33] предусматривает уход и присмотр за детьми с младенческого возраста до школы и обязывает работника проходить предварительные (при поступлении на работу) и периодические медицинские осмотры, а также проходить вакцинацию по возрасту в соответствии с национальным календарем прививок и по эпидемиологическим показателям [44]. Эти требования представляют собой серьезное испытание для иммунной системы пожилого человека, а сама деятельность предполагает высокую концентрацию внимания и нервное напряжение, не имеющие адекватной оценки на рынке труда. Средняя зарплата няни в детском саду составляет 18 тыс. руб. [17].

Кроме того «няня», «помощник воспитателя» относятся к работам с вредными и опасными условиями труда, вследствие чего для их исполнения предусмотрен перечень противопоказаний [32], среди которых ИБС (701,3 случая заболевания), гипертоническая болезнь (954,1 случая заболевания), болезни органов дыхания (35 161,2 случая заболевания) и иные наиболее распространенные у пожилых лиц [39]. Таким образом, пожилой соискатель может быть не допущен к программе переподготовки по медицинским показаниям.

При этом есть профессии сестры-хозяйки и кондуктора, которые могли бы быть востребованы пожилыми женщинами, но обучение предпенсионеров по ним не проводится. Подготовка же по близким к ним специальностям контролера-кассира или кладовщика предусмотрена не во всех субъектах федерации.

Не менее актуальным является также вопрос кардинальной смены деятельности лица предпенсионного возраста, потерявшего работу по любым основаниям. Фактически, если вопрос будет стоять о выживании, люди согласятся на любой формат обучения с гарантией трудоустройства. В иных случаях такая смена деятельности будет либо совсем невозможна, либо крайне затруднительна.

Кроме того, еще до увеличения пенсионного возраста специалисты давали оценку таким краткосрочным программам переподготовки. Так, в частности, А. Сафонов утверждал в 2017 г.: краткосрочные программы, как правило, не привязаны к ситуации на рынке труда и являются бессмысленной тратой денег. По его мнению, поколение 50+ нуждается в полноценном образовании по программам последующего высшего и среднего профессионального образования, причем на безвозмездной основе, поскольку лица предпенсионного возраста ограничены в средствах.

По мнению О. В. Сенокосовой, проблема обучения предпенсионеров заключается в ограничении инфраструктуры в сегменте образовательных услуг и ограничениями в здоровье самих обучающихся. Приводя данные ПАО «Ростелеком» и ПФ РФ по обучению предпенсионеров по программе

«Компьютерная грамотность», она отмечала, что за период 2014—2017 гг. обучение прошли не более 100 тыс. человек. При этом никакими данными об их трудоустройстве статистические службы не располагают [47].

Вместе с тем, анализируя труды зарубежных ученых [59], российские экономисты отмечают ряд моментов, которые имеют важное значение для экономически успешного общества:

• увеличение численности населения пожилого возраста создает дополнительный спрос на отдельные виды ресурсов, необходимых для поддержания прежнего уровня потребления в старости;

• пожилые люди способны собрать определенный капитал за период трудовой жизни и потратить его на поддержание достойного образа жизни;

• отказ от многодетности позволяет увеличить расходы на личное потребление, в том числе и в пожилом возрасте.

При этом для граждан, проживающих в странах с низким уровнем дохода на душу населения, отсутствием сбережений, остается лишь стратегия выживания, которая усиливается в пожилом возрасте.

Представляется, что постепенный переход от стратегии выживания к стратегии качественной жизни невозможен без анализа решения проблем создания и сохранения рабочих мест для людей пожилого возраста экономически развитых стран.

Одной из стран, в которых такое решение является, на наш взгляд, наиболее эффективным, следует признать Японию, отличающуюся самобытностью культуры и приверженностью традициям. Обратимся к данному опыту как одному из возможных путей решения проблем трудоустройства пожилых.

Опыт Японии в решении проблемы сохранения работы для пожилых граждан

Японцы считаются одной из самых здоровых наций в мире, поддерживая высокую экономическую активность после достижения пенсионного возраста до старости.

Несмотря на очевидные различия между Россией и Японией по уровню и средней продолжительности жизни, в настоящее время эти страны столкнулись с общей проблемой старения населения. Сопоставляя данные, можно отметить:

• по оценке ВОЗ, предполагаемая при рождении продолжительность жизни в России составляет 66 лет для мужчин и 77 лет для женщин [6]; в Японии — 81 год для мужчин и 87 для женщин [7];

• по данным Росстата за 2018 г. [41], из 146 880 тыс. общего состава населения России, 37 362 тыс. составляют граждане пенсионного возраста;

• по оценкам экспертов, доля пожилых граждан в общей численности населения Японии к 2030 г. увеличится до 30,4 % и будет возрастать до пиковых значений к 2043 г., достигнув 38 780 тыс. человек из 124 776 тыс. [60].

И если пенсионный возраст в России оставался одним из самых низких в мире до января 2019 г., в Японии он сохранялся неизменно высоким на протяжении многих лет, составляя 60 лет для мужчин и женщин. Вместе с тем, специфика пенсионной системы состоит в том, что к 60 годам пенсионные выплаты составляют лишь $^1/_3$ того обеспечения, на которое пенсионер вправе рассчитывать по достижении 65 лет. Поэтому мотивом к сохранению работы является экономический фактор.

В исследованиях экономистов подчеркивается, что в условиях пожизненного найма единственной возможностью обновления кадрового состава является установление предельного возраста пребывания в должности (тэйнэн), который становился единственным правомерным способом увольнения сотрудника. В 1998 г. предельный возраст установился на границе 60 лет и возникла очевидная проблема занятости лиц, ограниченных в праве получения полноценных пенсионных выплат.

В настоящее время система пожизненного найма утрачивает былое значение и замещается элементами краткосрочного найма при более низких порогах оплаты труда или так называемой непостоянной (временной) работой, чтобы работодатель имел возможность прекратить трудовые отношения в любой момент [19].

Необходимость решения вопросов обеспечения пожилых граждан рабочими местами до выплаты пенсии создала предпосылки для принятия ряда важных законов. Одним из самых известных является закон «О стабилизации занятости пожилых работников» 1971 г., многократно подвергавшийся коррекции для улучшения положения людей старше 60 лет и возрастания требований к работодателям.

В постановлении правительства «О мерах по обеспечению занятости пожилых работников» 2000 г., работодателям предлагалось избрать одну из возможных мер разрешения данной проблемы:

упразднить тэйнэн, повысить тэйнэн либо сохранить рабочее место за сотрудником после достижения тэйнэн.

В 2007 г. в закон Японии «О стабилизации занятости пожилых работников» внесли изменения, согласно которым работодатель, уволивший работника по достижению предела работы, обязан заключить с ним договор перенайма на срок, согласованный сторонами, либо сохранить рабочее место за работником после достижения тэйнэн. Фактически, данное обстоятельство очень сближает правовую регламентацию в сфере труда Японии и России, поскольку практика увольнения по сокращению штатов в связи с достижением пенсионного возраста или перевод пенсионера на срочный договор весьма распространена в России. Являясь дискриминационной, такая практика запрещена во многих странах мира.

Японский журнал исследований проблем труда и занятости [58] публиковал данные о сохранении механизма увольнения с последующим срочным наймом работников крупными предприятиями, где в условиях непрерывного стажа трудился работник, позволяя сохранить работу после достижения им 60 лет.

Сотрудник отдела пенсий пенсионного департамента министерства здравоохранения, труда и благосостояния Японии Ацуси Каваи пояснил, что в настоящее время работодатель обязан сохранять на работе сотрудника, достигшего 60 лет, до 65-летнего возраста или до тех пор, пока тот изъявляет желание работать. При этом работник может уволиться по собственному желанию в любой период до достижения 65 лет, потеряв при этом часть пенсионного обеспечения [5]. Вместе с тем, по достижению тэйнэн, работодатель, заключивший с работником договор перенайма, вправе год от года снижать заработную плату работнику, пока последний согласен выполнять работу в новых условиях. Новые условия означают иное содержание трудового функционала либо перевод на сокращенную продолжительность рабочего времени (неполный рабочий день или неполную рабочую неделю).

Министерство здравоохранения, труда и благосостояния Японии тщательно контролирует сферу труда с участием пожилых людей. В частности, в соответствии с положениями закона «О совершенствовании управления занятостью для работников, занятых неполный рабочий день» [61] работодатель обязан обеспечить равенство правового положения между работниками, занятыми неполный рабочий день, и работниками полного рабочего дня.

Для работодателей, пренебрегающих требованиями данного закона, установлена возможность порицания министром путем публичного оглашения имен виновных на специальной коллегии.

В действующие законы «О частичной занятости», «О трудовом договоре» и «О трудоустройстве» [57] в 2015 г. внесены изменения, касающиеся обеспечения справедливого обращения с работниками независимо от типа их занятости. В частности, общим требованием к работодателям является обязанность установления равных условий труда для работников, нанятых по срочному договору, и работающих на постоянной основе при добросовестном выполнении трудовой функции в соответствии со штатным расписанием.

Для обеспечения выполнения обязательств, указанных выше, правительство применяет административные меры (публичное порицание и штраф).

В Японии крайне низкий уровень безработицы и пожилые, желающие трудиться, могут найти подходящую для себя работу. Абсолютное большинство работающих по найму японцев 60–64 лет сохраняют постоянную работу, но после достижения 65 лет желающие работать могут претендовать только на непостоянную (временную) работу. Их положение на рынке труда отличается от положения лиц до 60 лет и во многом зависит от усмотрения работодателя. Получая пенсионное обеспечение в полном объеме, лица, достигшие 65 лет, считаются социально защищенными и не обладающими какими-либо трудовыми привилегиями. В этом можно усмотреть еще одно очевидное сходство с правовой регламентацией труда между Японией и Россией. Пенсионер России может претендовать на вакансию до тех пор, пока она не занята работником трудоспособного возраста. При этом срочный договор позволяет работодателю прекратить отношения с пенсионером за утратой срока его действия.

Различия состоят в том, что японский пенсионер имеет высокий размер пенсионного обеспечения (около 1,6 тыс. долларов США), поэтому после 65 лет работает небольшой процент пожилых людей. Средний размер пенсии по возрасту в России с 1 января 2019 г. составляет 14 151 руб. [48] (216 долларов США), то есть потребность в сохранении работы обоснована выживанием.

Вместе с тем, в последнее время правительство Японии все чаще говорит о необходимости ре-

формы пенсионной системы, прежде всего за счет увеличения возраста выхода на пенсию до 70 лет, поскольку на трудоспособное население ложится непомерная нагрузка содержания пожилых. Премьер-министр Японии Синдзо Абэ, выступая на заседании Совета по инвестициям в будущее, обратил внимание присутствующих на необходимость трудоустройства пожилых с учетом их опыта и знаний.

Это мнение поддерживается и учеными. Так, по оценкам профессора Института социологии Токийского университета доктора экономических наук Гэнда Юдзи, для обеспечения стабильности японской пенсионной системы необходимо не только сократить размер пенсий, но и повысить возрастную планку начала выплат до 70 лет [56].

В этой связи правительство Японии готовит изменения в закон «О стабилизации занятости пожилых людей», который обеспечит занятость пожилых людей до 70 лет. При этом общий пенсионный возраст останется неизменным. Продолжая трудиться, пожилой сотрудник сохранит право на выплату заработной платы и пенсии в полном объеме, тогда как в настоящее время из пенсии вычитается сумма, превышающая порог в 2,5 тыс. долларов США [31].

Создание специальной агентской службы помощи в трудоустройстве пожилых HallowWork направлено на предоставление информации о вакансиях, оказание консультационных услуг по подбору и поиску подходящих вакансий, по составлению резюме, а также правовому сопровождению пожилых соискателей работы. Для улучшения занятости работников, работающих неполный рабочий день, в настоящее время есть региональные бюро труда.

Кроме того, с 1994 г. правительством Японии введена «экстренная политика занятости», предусматривающая стимулирование работодателей, принимающих на работу лиц старше 61 года по рекомендации регионального бюро труда путем личного премирования работодателя и дотирования предприятий [8]. Такая мера позволяет поддерживать интерес работодателей к найму пожилых работников, а соискателям работы получать ее наименьшим периодом ожидания. Премирование работодателя имеет индивидуальный характер и состоит из различного объема материального вознаграждения с учетом периода трудоустройства работника. Дотирование предприятия включает компенсацию расходов на создание и поддержание рабочих мест для работников.

Важной особенностью рынка труда Японии является также и тот факт, что перечисленные меры защиты прав пожилых работников работают в комплексе. Публичное порицание работодателя за отказ исполнения требований закона в Японии действует убедительней, чем уголовная ответственность за необоснованный отказ в принятии на работу или увольнения предпенсионера, предусмотренная ст. 144.1 УК РФ в России [50]. Применение мер поощрения действует всегда эффективнее, чем угроза наказанием. Однако ни в одном нормативном акте России не предусмотрен аналогичный механизм решения проблемы трудоустройства для предпенсионеров.

Представляется, что все перечисленные меры позволяют пожилым японцам достаточно уверенно встречать старость, без особого страха потери работы и высоким социальным обеспечением, тогда как в России страх потери работы входит в пять самых сильных тревог общества, усиливающихся с возрастом [23].

Заключение

Таким образом, проблема сохранения и создания рабочих мест для лиц предпенсионного возраста нуждается в скорейшем решении, под угрозой выживаемости слабейшей и, вместе с тем, одной из самых ценных когорт общества, обладающих значительным опытом жизни в сложных экономических условиях и вырастивших детей без (ставших бестселлерами впоследствии) программ материнского капитала, льготной ипотеки, выплат за каждого последующего ребенка. В этой помощи равным образом нуждаются как пожилые женщины, так и мужчины. Вместе с тем, трудоустройство пенсионеров в скором времени станет неактуальной темой, поскольку пенсионер обеспечен социальной выплатой по старости и любые его фактические подработки являются лишь дополнительным доходом.

Низкая востребованность программ переподготовки у пожилых связана с кратким курсом освоения новых компетенций, а также отсутствием базовых программ подготовки по новым востребованным рынком труда специальностям в конкретном регионе.

Открытым остается вопрос гарантий трудоустройства прошедших обучение лиц. Закрепление таких гарантий формально предусмотрено новым законодательством. Вместе с тем, трудоустройство зависит от успешности освоения про-

граммы и готовности соискателя приступить к исполнению трудовых обязанностей.

Соответствие рабочего места и условий труда полученным компетенциям нуждается в документальном подкреплении.

Регулярный мониторинг трудоустройства прошедших обучение или переподготовку предпенсионеров создаст барьерный механизм против незаконного увольнения, а также исключит формализм работодателя при их трудоустройстве для получения финансовых компенсаций от государства.

Анализируя зарубежный опыт эффективного решения задач сохранения рабочих мест, можно использовать аналогичные механизмы, ориентируя, в том числе, программы переподготовки специалистов под новые экономические перспективы жизни пожилых людей.

В настоящее время работодатели не желают иметь трудовые отношения с категорией работников 50+, что создает для них дополнительные сложности в поиске работы и трудоустройстве. Эта ситуация достигнет переломного момента к окончанию переходного этапа увеличения возраста выхода на пенсию.

Даже по самым скромным прогнозам Росстата, к 2031 г. на каждые 100 тыс. человек трудоспособного возраста придется 832 человека старшего возраста [40]. Опоздание с решением проблемы создания рабочих мест для граждан нового возраста трудоспособности создаст категорию новых иждивенцев, находящихся на попечении детей. Вместе с тем, поскольку наличие детей, как и их трудоспособность, является лишь возможным допущением, трудоустройство предпенсионеров должно входить в стратегическую программу государства, имеющую высокое общественное значение.

Настоящая работа представляет собой частное авторское исследование, исключающее конфликт интересов.

Литература

1. Агранович М.Л. Оценка шансов на занятость работников предпенсионного и пенсионного возраста // Эконом. политика. 2019. Т. 14. № 2. С. 90–109.

2. Барсуков В.Н. Трудовая активность населения пенсионного возраста как фактор социально-экономического развития территории // Эконом. и соц. перемены: факты, тенденции, прогноз. 2016. Т. 1. № 43. С. 195–211.

3. Бизнес выступил против наказания за увольнение возрастных сотрудников [электронный ресурс] URL: https://iz.ru/771203/tatiana-gladysheva/biznes-vystupil-protiv-nakazaniia-za-uvolnenie-vozrastnykh-sotrudnikov (дата обращения 20.08.2019 г.).

4. Вишневский А.Г. Возраст выхода на пенсию и продолжительность жизни [электронный ресурс] URL: https://institutiones.com/general/2104-vozvrast-vyxoda-na-pensiyu-i-prodolzhitelnost-zhizni.html (дата обращения 08.08.2019 г.).

5. Возраст «второй жизни». Как в Японии решили пенсионный вопрос [электронный ресурс] URL: https://ria.ru/20180820/1526830075.html (дата обращения 21 августа 2019 г.).

6. ВОЗ. Предполагаемая при рождении продолжительность жизни за 2016 год в России [электронный ресурс] URL: https://www.who.int/countries/rus/ru/ (дата обращения 12.08.2019 г.).

7. ВОЗ. Предполагаемая при рождении продолжительность жизни за 2016 год в Японии [электронный ресурс] URL: https://www.who.int/countries/jpn/ru/(дата обращения 12.08.2019 г.).

8. Дробница А.В. Социальная защита лиц пожилого возраста в Японии // Власть и управление на Востоке России. 2007. № 4 (41). С. 128–133.

9. Закон РФ от 19.04.1991 № 1032–1 (ред. от 11.12.2018) «О занятости населения в Российской Федерации» (с измен. и доп., вступ. в силу с 01.01.2019) // Рос. газета. 1996. № 84 от 6 мая.

10. Закон Санкт-Петербурга от 27 февраля 2019 г. № 104–21 «О резервировании рабочих мест для трудоустройства граждан, испытывающих трудности в поиске работы» [электронный ресурс] URL: https://www.gov.spb.ru/static/writable/ckeditor/uploads/2019/03/18/51/%D0%97%D0%B0%D0%BA%D0%BE%D0%BD_%D0%A1%D0%B0%D0%BD%D0%BA%D1%82-%D0%9F%D0%B5%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B1%D1%83%D1%80%D0%B3%D0%B0_104–21_%D0%BE%D1%82_27.02.2019–1.pdf (дата обращения 21 августа 2019 г.).

11. За пятьдесят. Как обеспечить востребованность людей предпенсионного возраста [электронный ресурс] URL: https://iz.ru/779748/elena-loriia-elena-ladilova-valeriia-nodelman-ekaterina-veto/za-piatdesiat (дата обращения 21 августа 2019 г.).

12. Зарплата с трудом [электронный ресурс] URL: https://rg.ru/2019/01/09/topilin-zarplaty-biudzhetnikov-vyrastut-v-novom-godu-na-43-procenta.html (дата обращения 21 августа 2019 г.).

13. Как обеспечить востребованность людей предпенсионного возраста [электронный ресурс] URL: https://iz.ru/779748/elena-loriia-elena-ladilova-valeriia-nodelman-ekaterina-veto/za-piatdesiat (дата обращения 08.08.2019 г.).

14. Квалификация за три месяца: как власти хотят переобучить предпенсионеров [электронный ресурс] URL: https://www.rbc.ru/economics/15/10/2018/5bc467a09a7947871be01a69 (дата обращения 11 августа 2019 г.).

15. Кашепов А. Прогнозирование конъюнктуры рынка труда в условиях современных институциональных реформ // Соц.-труд. исследования. 2019. № 1. С. 44–57 [электронный ресурс] URL: https://www.vcot.info/assets/img/magazine/issues/2019/34.pdf (дата обращения 20 августа 2019 г.).

16. Карцева М.А., Горлин Ю.М., Ляшок В.Ю. (РАНХиГС) Материалы XX апрельской международной научной конференции по проблемам развития экономики и общества. 9–12 апреля 2019 г. [электронный ресурс] URL: https://conf.hse.ru/2019/ (дата обращения 11 августа 2019 г.).

17. Какая зарплата у няни в детском саду [электронный ресурс] URL: https://prozarplaty.ru/v-kommercheskih-organizaciyah/kakaya-zarplata-u-nyani-v-detskom-sadu.html (дата обращения 22 августа 2019 г.).

18. Кодекс Российской Федерации об административных правонарушениях от 30.12.2001 № 195-ФЗ (ред. от 02.08.2019 г.) (с измен. и доп., вступ. в силу с 13.08.2019 г.) [электронный ресурс] URL: официальный интернет-портал правовой информации http://www.pravo.gov.ru — 02.08.2019 (дата обращения 22 августа 2019 г.).

19. Лебедева И.П. Япония: проблемы занятости пожилых работников // Япон. исследования. 2018. № 4. С. 60–77.

20. Минтруд признал недостаточным темп программы переобучения пенсионеров [электронный ресурс] URL: https://www.rbc.ru/economics/15/04/2019/5caf6ef19a7947fefd8bf61a (дата обращения 11 августа 2019 г.).

21. Минтруд спрогнозировал рост числа безработных предпенсионного возраста на 60% [электронный ресурс] URL: https://www.vedomosti.ru/economics/articles/2019/07/19/806878-mintrud-sprognoziroval-rost-chisla (дата обращения 21 августа 2019 г.).

22. МВФ снижает прогноз роста ВВП России в 2019 г. до 1,2%, призывает к реформам [электронный ресурс] URL: https://www.reuters.com/article/us-imf-russia-report/imf-cuts-forecast-for-russian-2019-gdp-growth-to-12-calls-for-reforms-idUSKCN1UC0VR (дата обращения 06.08.2019 г.).

23. Основные страхи и тревоги населения России [электронный ресурс] URL: https://www.levada.ru/2018/09/06/trevozhashhie-problemy/ (дата обращения 14.08.2019 г.).

24. Основная профессиональная образовательная программа среднего профессионального образования по специальности «Сестринское дело» [электронный ресурс] URL: http://medcoll.cfuv.ru/wp-content/uploads/2015/07/Obr-prog-34.02.01-Sestr-delo.pdf (дата обращения 21 августа 2019 г.).

25. Образовательная программа ДПО (повышения квалификации на базе среднего профессионального образования) «Парикмахерское дело» [электронный ресурс] URL: https://pmschool.ru/files/17._obrazovatelnaya_programma_dpo_parikmaherskoe_delo.pdf (дата обращения 11.08.2019 г.).

26. «ОК 010–2014 (МСКЗ-08). Общероссийский классификатор занятий» (принят и введен в действие Приказом Росстандарта от 12.12.2014 № 2020-ст) [электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req= doc&base=LAW&n=177953&fld=134&dst=107784,0&rnd= 0.7559745136213476#02967638509976771 (дата обращения 11.08.2019 г.).

27. Около 2 тысяч предпенсионеров пройдут профобучение в 2019 г. [электронный ресурс] URL: https://mosreg.ru/sobytiya/novosti/news-submoscow/intervyu-okolo-2-tysyach-podmoskovnykh-predpensionerov-proydut-profobuchenie-v-2019-godu (дата обращения 06.08.2019 г.).

28. Объем Фонда национального благосостояния [электронный ресурс] URL: https://www.minfin.ru/ru/document/?id_4=27068 (дата обращения 21 августа 2019 г.).

29. О ходе реализации федерального проекта «Старшее поколение» национального проекта «Демография» [электронный ресурс] URL: http://government.ru/news/36677/ (дата обращения 6 августа 2019 г.).

30. Паспорт Национального проекта «Демография», утвержденный президиумом Совета при Президенте Российской Федерации по стратегическому развитию и национальным проектам (протокол от 24 декабря 2018 г. № 16) [электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_317388/ (дата обращения 06 августа 2019 г.).

31. Правительство Японии призвало компании нанимать пожилых работников [электронный ресурс] URL: https://rg.ru/2019/05/16/pravitelstvo-iaponii-prizvalo-kompanii-nanimat-pozhilyh-rabotnikov.html (дата обращения 12 августа 2019 г.).

32. Приказ Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 № 302н (ред. от 06.02.2018 г.) «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда» // Рос. газета. 2012. № 73 от 4 апреля (прилож. № 1, 2).

33. Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 5 декабря 2018 г. № 769н «Об утверждении профессионального стандарта “Няня (работник по присмотру и уходу за детьми)”». https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72038314/ (дата обращения 11.08.2019 г.).

34. Постановление Правительства Москвы от 26 апреля 2019 г. № 436-ПП «О реализации Пилотной программы профессионального обучения и дополнительного профессионального образования граждан предпенсионного возраста в городе Москве на 2019 год» [электронный ресурс] URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/49556370/ (дата обращения 06.08.2019 г.).

35. Приказ Минтруда России от 02.07.2019 № 461н «Об установлении величины прожиточного минимума на душу населения и по основным социально-демографическим группам населения в целом по Российской Федерации за I квартал 2019 года» // Рос. газета. 2019. №160 от 24 июля.

36. Постановление Правительства РФ от 15.11.2018 № 1375 «О размерах минимальной и максимальной величин пособия по безработице на 2019 год» // Рос. газета. 2018. № 260 от 20 ноября.

37. Росстат. Проблемы занятости населения в 2014 году [электронный ресурс] URL:http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/generation/# (дата обращения 08.08.2019 г.).

38. Росстат «Социально-экономические индикаторы бедности» [электронный ресурс] URL: http://www.gks.ru/bgd/regl/b18_110/Main.htm (дата обращения 14 августа 2019 г.).

39. Росстат. Сборник статистики. Здравоохранение в России. 2017 год [электронный ресурс] URL: http://www.gks.ru/free_doc/doc_2017/zdrav17.pdf (дата обращения 12 августа 2019 г.).

40. Росстат. Прогноз на 2030 год [электронный ресурс] URL: http://www.gks.ru (дата обращения 20 августа 2019 г.).

41. Росстат. Численность населения РФ [электронный ресурс] URL: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/generation/#

42. Распоряжение Правительства РФ от 25.12.2012 № 2524-р (ред. от 24.10.2018 г.) «Об утверждении Стратегии долгосрочного развития пенсионной системы Российской Федерации» // Собрание законодательства РФ. 31.12.2012. № 53 (ч. 2). Ст. 8029.

43. Распоряжение Правительства РФ от 30.12.2018 № 3025-р «Об утверждении специальной программы профессионального обучения и дополнительного профессионального образования граждан предпенсионного возраста на период до 2024 года» (вместе с Планом мероприятий по организации профессионального обучения и дополнительного профессионального образования граждан предпенсионного возраста на период до 2024 года) [электронный ресурс] URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72041820/ (дата обращения 06.08.2019 г.)

44. СанПиН 2.4.1.3049–13 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, содержанию и организации режима работы дошкольных образовательных организаций» [электронный ресурс] URL: https://base.garant.ru/70414724/53f89421bbdaf741eb2d1ecc4ddb4c33/ (дата обращения 11.08.2019 г.).

45. Салин В.Н., Глебкова И.Ю., Долбик-Воробей Т.А. Занятость пенсионеров. Статистический анализ // Вестн. финансового ун-та. № 5. 2016. С. 58–66.

46. Сардарян А.Р., Петроченко А.А. Современное состояние и проблемы рынка труда // Изв. Сарат. ун-та (серия «Экономика. Управление. Право»). 2018. Т. 18. Вып. 1.

47. Сенокосова О.В. Проблемы использования труда и подготовки населения в возрасте 60+ // Проф. ориентация. 2018. № 2. С. 11–17.

48. Средний размер пенсии по возрасту в России [электронный ресурс] URL: https://pfrp.ru/faq/srednyaya-pensiya-v-rossii.html (дата обращения 12.08.2019 г.).

49. Старшее поколение и будущее / Под ред. Н.М.Римашевской. М.: Эконом. образование, 2014.

50. Уголовный кодекс Российской Федерации от 13.06.1996 № 63-ФЗ (ред. от 02.08.2019) // Собрание законодательства РФ. 17.06.1996. № 25. Ст. 2954.

51. Указ Президента РФ от 7 мая 2018 г. № 204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года» // Собрание законодательства РФ от 14.05.2018 г. № 20. Ст. 2817.

52. Федеральный закон от 29.11.2018 № 459-ФЗ (ред. от 18.07.2019) «О федеральном бюджете на 2019 год и на плановый период 2020 и 2021 годов». Официальный интернет-портал правовой информации [электронный ресурс] URL: http://www.pravo.gov.ru — 18.07.2019.

53. Федеральный закон от 19 июня 2000 г. № 82-ФЗ «О минимальном размере оплаты труда» // Рос. газета. 2000. № 118 от 21 июня.

54. Федеральный закон от 03.10.2018 № 350-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации по вопросам назначения и выплаты пенсий» // Собрание законодательства РФ. 08.10.2018. № 41. Ст. 6190.

55. Число закрывшихся бизнесов в два раза превысило число открывшихся [электронный ресурс] URL: https://www.rbc.ru/economics/06/06/2019/5cf7bc9b9a79474f236c46a3 (дата обращения 21 августа 2019 г.).

56. Юдзи Г. Серьёзные перемены на рынке труда в Японии [электронный ресурс] URL: https://www.nippon.com/ru/currents/d00151/ (дата обращения 12.08.2019 г.).

57. Ensuring Fair Treatment of Workers Irrespective of their Employment Types (Revision of the Part-time Employment Act, Labor Contract Act and the Worker Dispatching Act). [электронный ресурс] URL: https://www.mhlw.go.jp/english/policy/employ-labour/fixed-term-workers/dl/201904koyo.pdf (дата обращения 13.08.2019 г.).

58. Japan Institute for Labor Policy and Training [электронный ресурс] URL: http://www.jilpt.go.jp (дата обращения 10.08.2018 г.).

59. Lee R., Mason A. Population aging, wealth and economic growth: demographic dividends and public policy. WESS background paper, 2015.

60. Statistics Bureau Homepage [электронный ресурс] URL: https://www.stat.go.jp/english/data/roudou/results/month/index.html

61. The Act for Partial Revision of the Act on Improvement of the Employment Management for Part-Time Workers (Overview) [электронный ресурс] URL: https://www.mhlw.go.jp/english/policy/employ-labour/fixed-term-workers/dl/140711-01.pdf (дата обращения 13.08.2019 г.).

Поступила в редакцию 24.08.2019
После доработки 16.09.2019
Принята к публикации 23.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 870–881

O. N. Bobrovskaya

ON THE STRATEGIC OBJECTIVES OF RUSSIA AND JAPAN'S EXPERIENCE IN CREATING JOBS FOR CITIZENS OF A NEW AGE OF WORKING CAPACITY: ECONOMIC AND LEGAL RESEARCH

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8 Trubetskaya str., Moscow 119991,
e-mail: uracadem@yandex.ru

The increase in the duration of employment cannot but entail consequences that objectively reflect the realities of the labor market for the category of workers of pre-retirement age. The analysis of the situation in the labor market in modern economic realities allows us to highlight the global problem of obtaining and maintaining a job for the category of workers aged 50+. The prospects of its growth by the end of the transition period of change in the retirement age say experts from different industry areas. At the same time, there is currently an increase in the number of people who are actively looking for work and do not have a chance in employment as unpromising workers for the interests of the employer. Attempts to solve the problem of providing jobs for older workers at the state level are assessed as ineffective and not able to dramatically affect the improvement of the tasks of protecting the rights of people from unemployment and poverty. Referring to the experience of Japan, which has many intersections in the legislative and social aspects in solving the problems of creating and maintaining jobs for older workers with Russia, we will outline the possible prospects for solving this problem as an important strategic task of the state.

Key words*: new age of working capacity, jobs, job security for pre-pensioners, retraining and training programs*

© Ю. А. Сафонова, Г. М. Глазунова, 2019
УДК 616.74-007.23-07-053.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 882–888

Ю. А. Сафонова[1, 2], *Г. М. Глазунова*[1]

КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ САРКОПЕНИИ У ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

[1] Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, e-mail: jula_safonova@mail.ru; [2] Клиническая ревматологическая больница № 25, 190068, Санкт-Петербург, ул. Большая Подьяческая, 30

Цель исследования — оценка распространенности саркопении у людей старше 65 лет и анализ инструментальных и функциональных методов исследования скелетных мышц в пожилом и старческом возрасте. Проведено обследование случай-контроль 230 участников 65 лет и старше, средний возраст 74±6,5 года. Пациенты разделены на три возрастные группы: 1-я — 65–74 года; 2-я — 75–84 года; 3-я — 85 лет и старше. Мышечную массу рассчитывали по индексу аппендикулярной мышечной массы (АММ/м²), скорректированному на рост пациента, с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Мышечная сила измерена кистевым динамометром «Jamar», мышечная функция определена по результатам краткого комплекса тестов физической активности SPPB (Short Physical Performance Battery). Распространенность саркопении составила 30% в представленной выборке и увеличивалась с возрастом пациентов. Не было выявлено существенных различий в частоте встречаемости наиболее распространенных хронических заболеваний, за исключением ожирения, которое выявлялось у пациентов с саркопенией реже, чем у пациентов без саркопении (*p*<0,0001). Результаты исследования показали, что у пациентов с саркопенией выявлены низкие показатели индекса АММ (*p*<0,001) и значения мышечной силы (*p*<0,001) по сравнению с пациентами, у которых саркопения не была обнаружена. Результаты общего балла SPPB-тестов были снижены в обеих группах, однако у пациентов с саркопенией были достоверно ниже, чем у людей без нее (*p*=0,035), за счет тестов на балансировку.

Ключевые слова: саркопения, мышечная функция, пожилой возраст

Общая ожидаемая продолжительность жизни человеческой популяции во всем мире растет не только из-за снижения рождаемости и увеличения продолжительности жизни, но также в результате улучшения условий жизни и доступности инновационных методов лечения, особенно при инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваниях [3, 27]. Старение связано с постепенной потерей функций тканей и органов. Пожалуй, нет какой-либо другой ткани, которая столь быстро и в таком объеме терялась с возрастом, как мышечная. Считается, что средние потери мышечной массы у человека составляют около 1 % в год после 35–40 лет или 3–8 % на каждое следующее десятилетие, а после 60 лет этот процесс резко ускоряется до 15 % каждые 10 лет жизни и ассоциируется с саркопенией [29].

Первоначально термин «саркопения» был предложен профессором I. Rosenberg в 1989 г. как универсальная потеря мышечной массы и силы в процессе старения [25]. В связи с тем, что вклад саркопении в ухудшение здоровья населения стал более чем очевиден, в 2010 г. была создана Европейская рабочая группа по саркопении у пожилых людей — European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP), которая разработала клиническое определение и достигла консенсуса в формировании общих диагностических критериев для саркопении [10]. В дальнейшем изучением саркопении стали заниматься другие международные группы: Интернациональная рабочая группа по изучению саркопении — International Working Group on Sarcopenia (IWGS), Фонд Национального института здравоохранения — Foundation of NIH Sarcopenia (FNIH), Азиатская группа по изучению саркопении — Asian Working Group for Sarcopenia (AWGS) и общество по саркопении и кахексии — Society of Sarcopenia, Cachexia and Wasting Disorders (SCWD) [9, 11, 22, 28].

Согласно определению EWGSOP (2010), саркопения рассматривалась как синдром, характеризующийся прогрессирующей и генерализованной потерей мышечной массы, силы и функций скелетных мышц с возрастом [10]. Однако в 2018 г. EWGSOP после завершения работы экспертного совета и одобрения нового консенсуса в отношении саркопении международными организациями, в том числе и гериатрическими обществами, саркопения признана как прогрессирующее

и генерализованное заболевание скелетных мышц, которое связано с повышенной вероятностью неблагоприятных исходов, включая падения, переломы, инвалидность и смерть [12].

За последние 10 лет саркопения была признана одной из основных проблем общественного здравоохранения, поскольку чаще распространена у пожилых людей с неблагоприятным коморбидным фоном и связана с негативными событиями, влияющими на их здоровье [7].

Саркопения считается сложным заболеванием из-за ее многофакторного патогенеза [13]. В развитии саркопении участвует несколько возрастных факторов, таких как нервно-мышечная дегенерация, снижение выработки мышечного белка, изменение уровня и чувствительности гормонов, хроническое воспаление, окислительный стресс, факторы поведения и образа жизни [24]. В результате этих изменений снижается физическая активность, замедляется скорость ходьбы и способность к балансировке тела, повышается риск падений и переломов. Таким образом, отмечается уязвимость пожилых людей в отношении развития неблагоприятных последствий для здоровья, включая госпитализацию, низкое качество жизни и смертность от общих причин [6].

Важно отметить, что в 2016 г. саркопения признана в качестве независимого состояния с присвоением кода в классификаторе МКБ-10 и на сегодняшний день относится к разделу мышечно-скелетных заболеваний [8].

В основу оценки распространенности саркопении легли критерии, предложенные EWGSOP (2010). Диагностика саркопении включает измерение индекса аппендикулярной мышечной массы (АММ), мышечной силы и/или результатов функциональных тестов. Однако во всем мире не был достигнут единый подход ввиду использования разных способов измерения мышечной массы и границ нормальных значений, оценивающих силу мышц и ее функцию.

Несмотря на разные методы оценки скелетных мышц, большинство клинических и эпидемиологических исследований опирается на критерии, предложенные EWGSOP. Результаты исследования C. Beaudart и соавт. свидетельствуют о том, что приоритетными методами измерения мышечной массы являются КТ и МРТ [4]. Тем не менее, из-за высокой стоимости и ограниченного доступа такого рода оборудования, EWGSOP рекомендует в клинической практике использование двухэнергетической абсорбциометрии (DXA) или биоимпедансного анализа (BIA).

Распространенность саркопении в исследовании C. Beaudart и соавт., в котором строго придерживались критериев диагностики саркопении EWGSOP, варьировала от 9,25 до 18 % [4]. Результаты систематического обзора C. Beaudart и соавт. базы данных MEDLINE, EMBASE, Cochrane Database of Systematic Review, ACP Journal Club 2012–2015 гг. и анализа 1 026 исследований, из которых 16 соответствовали руководящим принципам EWGSOP, показали, что распространенность саркопении варьировала от 4,3 % у населения, наблюдавшегося амбулаторно, до 73,3 % у людей, живущих в домах-интернатах и сестринского ухода [6]. Наименьшую распространенность саркопении наблюдали в США — 4,3 %, Китае — 9,02 %, Корее — 8,8 %, Японии — 9,36 %, высокая распространенность отмечена в Испании — 58 % и Италии — 32,8 %. Другой систематический обзор A. J. Cruz-Jentoft и соавт. показал, что распространенность саркопении у женщин старше 50 лет варьировала от 1 до 29 % [11]. Хотя в исследования включали пациентов, которым диагноз устанавливали в соответствии с критериями EWGSOP, методики измерения мышечной массы были разными. В качестве примера приведено исследование F. Landi и соавт., в котором сообщалось о самой высокой распространенности саркопении (30,1 %) у итальянских женщин 80–85 лет. Этим женщинам мышечную массу измеряли по окружности плеча [18]. Авторы ряда исследований сообщали, что расчет мышечной массы проводили по оценке индекса АММ, скорректированного не только на рост пациента, но и на массу тела испытуемого, а также с поправкой на массу жировой ткани [14, 17, 23]. Полученные результаты значительно усложняли проведение сравнительного анализа. Еще одна сложность изучения распространенности саркопении заключалась в том, что в разных странах мира проводили измерение мышечной массы на разных устройствах — с помощью не только ДХА, но и биоимпедансного анализа (BIA), для которого показатели индекса АММ существенно отличаются от таковых, выполненных с помощью ДХА. Так, исследование C. Beaudart и соавт. показало, что распространенность саркопении варьировала от 8,4 до 27,6 %, однако при использовании метода BIA распространенность саркопении составляла в среднем 12,8 %, а при использовании метода DXA — 21 % [5].

Очень мало публикаций в отечественной литературе, посвященных изучению саркопении в России. Так, С. Л. Жабоева и соавт. показали, что в Белгороде у пациентов старше 65 лет распространенность саркопении варьировала от 18,1 до 46,9 % в зависимости от возраста [2]. Другое исследование С. В. Богат показало, что у людей, наблюдавшихся в амбулаторных условиях, распространенность саркопении составила 28 %, а у проживающих в домах-интернатах — 30 % [1].

Учитывая малый объем отечественных публикаций, возникла потребность оценить распространенность саркопении у людей пожилого и старческого возраста в одном из «стареющих» городов России.

Цель исследования — оценка распространенности саркопении у людей старше 65 лет и анализ инструментальных и функциональных методов исследования скелетных мышц в пожилом и старческом возрасте.

Материалы и методы

В исследование включены 230 пациентов 65 лет и старше (средний возраст 74±6,5 года), наблюдавшихся амбулаторно. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании после ознакомления с ним. Протокол клинических исследований № 45 от 22.12.2015 г. был одобрен местным этическим комитетом. Пациенты были распределены в три возрастные группы: 1-я — 65–74 года (n=112; 48,7 %); 2-я — 75–84 года (n=101; 43,9 %); 3-я — 85 лет и старше (n=17; 7,4 %). Характеристика участников представлена в *табл. 1*.

В исследование не включали пациентов, имевших переломы нижних конечностей в течение 6 мес до начала исследования с сохраняющимся негативным воздействием на функции нижних конечностей; любые значительные нарушения или заболевания, негативно влияющие на передвижение, например перемежающаяся хромота при тяжелом заболевании сосудов нижних конечностей; стеноз спинномозгового канала; тяжелый остеоартрит коленного или тазобедренного сустава, не поддающийся медикаментозной терапии и негативно влияющий на подвижность; пациентов с подтвержденным диагнозом психиатрического заболевания (деменция, болезнь Альцгеймера, шизофрения или биполярное расстройство); неврологические нарушения/заболевания со значительным и стойким функциональным дефицитом (инсульт с гемипарезом, травма спинного мозга, мышечная дистрофия, полимиозит, дерматомиозит, миопатия/миозит, миастения гравис, болезнь Паркинсона, периферическая полинейропатия), подтвержденная сердечная недостаточность III–IV стадии по классификации NYHA, например дилатационная кардиомиопатия, инфаркт миокарда, коронарное шунтирование; чрескожное коронарное вмешательство (ангиопластика или стентирование); тромбоз глубоких вен/тромбоэмболия легочных артерий в течение 12 нед до начала исследования. Критерии исключения: пациенты с нестабильной стенокардией в настоящее время, тяжелой патологией или дефектами клапанов сердца, тяжелой легочной

Таблица 1

Демографическая и социальная характеристика обследованных пациентов

Параметр	Абс. число	%
Пол		
мужчины	10	4,4
женщины	220	95,6
Возраст, лет		
65–74	112	48,7
75–84	101	43,9
85 и старше	17	7,4
Образование		
начальное	13	5,7
среднее	98	42,6
высшее	119	51,7
Вид проживания		
в семье	128	55,7
одинокие	102	43,3
Статус курения		
никогда не курил	222	96,5
бывший курильщик	8	3,5
Хронические сопутствующие заболевания		
ИБС	146	63,5
гипертоническая болезнь	171	74,3
атеросклеротический кардиосклероз	120	52,2
ХСН	41	17,8
сахарный диабет	20	8,7
ожирение	67	29,1
ХОБЛ	17	7,4
остеоартрит опорных суставов	159	69,1
постменопаузальный остеопороз	187	81,3
дегенеративно-дистрофическое заболевание позвоночника	174	75,7

неконтролируемой гипертензией, клинически значимыми нарушениями ритма, требующими терапевтического вмешательства; пациенты с онкологическими заболеваниями, а также лица, нуждающиеся в помощи других лиц для совершения одного или более основных повседневных действий (например, способность самостоятельно пользоваться туалетом, умывальником и ванной, одеваться, принимать пищу, причесываться) независимо от места проживания. Допускали пациентов, использовавших вспомогательные средства передвижения (трости).

Наличие саркопении определяли в соответствии с критериями, разработанными Европейской рабочей группой изучения саркопении EWGSOP (2010). Для диагностики саркопении необходимо наличие низких значений двух из трех критериев — индекса АММ, мышечной силы и/или результатов функциональных тестов. АММ измеряли с помощью DXA на аппарате «HOLOGIC Explorer QDR», а индекс АММ (кг/рост м^2) рассчитывали путем сложения суммарной мышечной массы скелетных мышц верхних и нижних конечностей в килограммах, деленной на рост пациента в квадрате. Низкий индекс АММ у женщин соответствовал значениям <5,5 кг/м^2, у мужчин — <7,26 кг/м^2. ИМТ рассчитывали путем деления массы тела в килограммах на рост пациента в квадрате (кг/м^2). ИМТ в норме — 18,5–24,9 кг/м^2, дефицит массы — <18,5 кг/м^2, избыточная масса тела — 25–29,9 кг/м^2, ожирение — >30 кг/м^2. Оценку мышечной силы проводили с помощью калиброванного кистевого динамометра «Jamar» (США). В документации фиксировали наилучший результат при двукратном выполнении задания левой и правой рукой в положении сидя. Для подтверждения саркопении показатели мышечной силы должны быть <20 кг для женщин и <30 кг для мужчин. Мышечную функцию и уровень физической активности изучали по результатам краткого комплекса тестов физической активности SPPB (Short Physical Performance Battery): удержание равновесия, скорость ходьбы, сила и эффективность работы нижних конечностей. Соответствующие задания включали три статичных положения с уменьшением степени поддержки для проверки способности сохранять равновесие, подняться со стула без использования рук, а также ходьбу с обычной скоростью на расстояние 4 м. Итоговый балл вычисляли путем сложения всех трех заданий, при этом использовали стандартизированную шкалу от 0 до 12. Более высокий балл соответствовал более сохранной функции и активности, при этом нарушение мышечной функции определяли при общем балле <9. Диагноз саркопении в нашем исследовании подтверждали при наличии низких значений всех трех критериев — мышечной массы, мышечной силы и ее функции.

Полученные результаты были обработаны с использованием программы Statistica for Windows (версия 10 Лиц. BXXR310F964808FA-V). Данные представляли в виде средней арифметической ± стандартное отклонение (*SD*) или в процентах. Результаты для количественных показателей представлены в виде параметрических [среднее и 95 % доверительный интервал (ДИ) для средних] и непараметрических данных (медиана и межквартильное расстояние). Сравнение качественных признаков в двух и более группах проводили с использованием таблиц сопряженности (критерий χ^2). При небольшом числе наблюдений применяли точный критерий Фишера. Результаты качественных показателей представлены в виде абсолютного числа наблюдений, относительной частоты наблюдений (%) и точного биномального 95 % ДИ для доли (интервал Клоппера—Пирсона). Нулевую гипотезу об отсутствии эффекта отвергали при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Саркопения выявлена у 69 (30 %) пациентов. Проанализирована распространенность саркопении в разных возрастных группах (*табл. 2*).

Выявлено, что риск развития саркопении в возрасте старше 85 лет в 1,88 раза (95 % ДИ 1,14–3,09) выше, чем у пациентов моложе 85 лет (p=0,012), и в 2,47 раза (95 % ДИ 1,40–4,38) выше по сравнению с возрастной группой 65–74 года (p=0,0019). Уровень образования, социальный статус пациентов не повлияли на рас-

Таблица 2

Частота встречаемости саркопении в разных возрастных группах

Саркопения	1-я группа		2-я группа		3-я группа		*p*
	абс. число (%)	95% ДИ	абс. число (%)	95% ДИ	абс. число (%)	95% ДИ	
Есть	24 (21,4)	14,3–29,6	36 (35,6)	26,5–45,3	9 (52,9)	27,9–77,2	0,0078
Нет	88 (78,6)	70,4–85,7	65 (64,4)	54,7–73,5	8 (47,1)	22,8–72,1	

пространенность саркопении ($p>0,05$). Не было выявлено существенных различий в зависимости от наличия ИБС, гипертонической болезни, атеросклеротического кардиосклероза, ХСН, сахарного диабета, остеопороза, дегенеративно-дистрофического заболевания позвоночника, остеоартрита опорных суставов, ХОБЛ ($p>0,05$). Важно отметить, что распространенность саркопении при наличии ожирения разной степени достоверно ниже, чем при ее отсутствии (2,9 %; 95 % ДИ 0,3–8,2 и 40,4 %; 95 % ДИ 32,9–48,1 соответственно, $p<0,0001$).

Проведена инструментальная оценка мышечной массы и силы скелетных мышц, а также анализ функциональных методов исследования на основе результатов выполнения SPPB-тестов (*табл. 3*).

Индекс АММ варьировал от 4,48 до 9,28 кг/м^2 (в среднем 6,42 кг/м^2) в изучаемой выборке 230 пациентов. Показатели мышечной силы колебались от 5 до 42 кг в популяции (в среднем 17,3 кг). Статистические результаты показали, что низкая мышечная сила повышала риск развития саркопении в 3,66 раза (95 % ДИ 1,98–6,76), $p<0,0001$.

Учитывая низкий общий балл SPPB-тестов у пациентов с саркопенией и без нее, был проведен анализ каждого из трех заданий, составляющих комплекс тестов: проверки способности сохранять равновесие, подняться со стула без использования рук, обычной скорости передвижения на расстоянии 4 м (*табл. 4*).

Как средние, так и абсолютные значения скорости ходьбы и результаты теста «Вставание со стула без использования рук» у пациентов с саркопенией достоверно не отличались от аналогичных показателей у пациентов без саркопении ($p>0,05$). Статистический анализ показал значимую сопряженность между тестом «Тандем» и наличием саркопении ($\chi^2=12,17$; $p<0,001$).

Результаты исследования показали, что распространенность саркопении у пациентов старше 65 лет согласуется с результатами других российских авторов — С. В. Богат и С. Л. Жабоевой и соавт. [1, 2]. Однако в этих исследованиях не было указаний, какой способ измерения мышечной массы был использован. Известно, что результаты могут существенно отличаться при анализе мышечной массы, измеренной на аппарате ДХА, от результатов, полученных при исследовании с помощью BIA. В то же время, наши результаты согласуются с данными систематического обзора A. J. Cruz-Jentoft и соавт., а именно с теми исследованиями, в которых измерение мышечной массы осуществляли на аппарате ДХА [11]. При сравнении данных распространенности саркопении с данными другого систематического обзора, в котором измерение мышечной массы осуществляли с поправкой на рост пациента (как и в нашем исследовании), выявлено полное соответствие данных распространенности саркопении (34,5 %) и результатов нашего анализа (30 %) [20]. Однако не все исследования, включенные в систематический обзор, сообщали о возрастном интервале обследованных пациентов, что затрудняло всесторонний анализ распространенности по возрасту. В нашем исследовании отмечено увеличение случаев саркопении с возрастом, как и в исследовании С. Л. Жабоевой и соавт. [2]. Также в исследовании R. M. Dodds и соавт. показано, что у женщин старше 85 лет распространенность саркопении составляла 21 %, однако измерение мышечной массы проводили с помощью BIA [16].

Показатели мышечной массы и силы скелетных мышц в представленной выборке пациентов с саркопенией значимо ниже, чем у пациентов без саркопении, и значения мышечной массы соответствуют аналогичным значениям в исследовании S. A. Studenski и соавт., а значения мышечной силы в нашей группе пациентов существенно ниже [28]. Однако из протокола исследования авторов неизвестны условия измерения мышечной силы и тип динамометра. Систематический обзор A. R. Sousa-Santos и соавт. показал, что разные методы определения мышечной силы существенно влияют на конечные результаты исследования [26]. Представляют интерес результаты метаанализа R. M. Dodds и соавт., в котором авторы доказывают, что на показатели мышечной силы влияет не только возраст, но и уровень развития страны. Так, средние показатели силы в развивающихся странах существенно ниже по сравнению с регионами развитых стран [15].

Таблица 3

Средние значения индекса аппендикулярной мышечной массы, мышечной силы и SPPB-тестов у пациентов старше 65 лет в зависимости от наличия саркопении, *mean±SD*

Параметр	Пациенты с саркопенией, *n*=69	Пациенты без саркопении, *n*=161	*p*
Индекс аппендикулярной мышечной массы, кг/м^2	5,40±1	6,77±1	<0,001
Мышечная сила, кг	15,1±5,4	18,2±5,4	<0,001
SPPB-тесты, балл	6,9±3,1	7,9±2,6	0,015

Таблица 4

Компоненты SPPB-тестов у пациентов старше 65 лет в зависимости от наличия саркопении

Параметр	Пациенты с саркопенией, *n*=69		Пациенты без саркопении, *n*=161		*p*
	абс. число (%)	95% ДИ	абс. число (%)	95% ДИ	
Скорость ходьбы					
<0,8 м/с	55 (79,7)	69,3–88,4	122 (75,8)	68,8–82,1	0,52
≥0,8 м/с	14 (20,3)	11,6–30,7	39 (24,2)	17,3–30,5	
Скорость ходьбы (*mean±SD*), м/с	0,66±0,20		0,70±0,17		0,15
Тест «Тандем»					
4 балла	44 (63,8)	51,9–74,8	136 (84,5)	78,4–89,7	<0,001
<4 баллов	25 (36,2)	25,2–48,1	25 (15,5)	10,3–21,6	
Тест «Вставание со стула без использования рук»					
<16,7 с	40 (58,0)	46,0–69,5	91 (56,5)	48,8–64,1	0,84
≥16,7 с	29 (42,0)	30,5–54,0	70 (43,5)	35,9–51,2	
Тест «Вставание со стула без использования рук» (*mean±SD*), с	18,04±6,58		17,99±6,44		0,95

В дальнейшем мы проведем анализ распространенности саркопении в разных регионах с разным уровнем обеспеченности в рамках Рабочей группы по изучению саркопении в России.

Результаты функциональных SPPB-тестов у пациентов с саркопенией были достоверно ниже, чем у пациентов без саркопении, и обусловлены нарушением функции равновесия в изучаемой группе. Так, низкие результаты теста «Тандем» повышали риск развития саркопении в 2,05 (95 % ДИ 1,40–2,98) раза (p=0,0002). Результаты систематического обзора D. M. Mijnarends и соавт. показали не только статистически значимую достоверность SPPB-тестов в отношении мышечной функции и физической активности, но выявили связь с повышением риска смерти у людей старше 70 лет [21]. Однако в публикации S. M.L. M. Looijaard и соавт. функциональные тесты «Тандем» и скорость ходьбы имели низкую чувствительность и специфичность в отношении саркопении [19]. Вероятно, эти данные привели к тому, что в обновленных рекомендациях по диагностике саркопении предложено использовать функциональные тесты только для оценки тяжести саркопении, а диагностический поиск начинается с определения мышечной силы.

Заключение

Результаты исследования показали высокую распространенность саркопении у людей старше 65 лет, отмечено увеличение случаев заболевания с возрастом населения. Следует отметить, что диагностику саркопении проводили строго в соответствии с критериями EWGSOP (2010), что повышало качество полученных результатов. Показатели мышечной массы и силы скелетных мышц у людей с диагностированной саркопенией достоверно ниже, чем у пациентов без саркопении. Данный факт не противоречит последним рекомендациям EWGSOP (2018). Пациенты как с саркопенией, так и без нее имели низкие значения функциональных тестов, у пациентов с саркопенией они существенно ниже. Наибольшую значимость показали результаты тестов на балансировку. Нарушение баланса у пациентов с саркопенией неизбежно повышает риск падений и других исходов согласно имеющимся литературным данным.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Определение структуры исследования, сбора, анализа и интерпретации данных, а также принятие решения опубликовать полученные результаты проводили без участия каких-либо спонсоров. Источников финансирования не было.

Литература

1. *Богат С.В.* Распространенность саркопении у пациентов старших возрастных групп // Геронтология. 2014. Т. 2. № 3. С. 305–310.

2. *Жабоева С.Л., Бочарова К.А., Герасименко А.В.* Скрининг саркопении: результаты пилотного проекта // Фундаментальные исследования. 2014. № 10. Ч. 9. С. 1690–1693.

3. *Ali S., Garcia J.M.* Sarcopenia, cachexia and aging: diagnosis, mechanisms and therapeutic options – a mini-review // Gerontology. 2014. Vol. 60. № 4. P. 294–305.

4. *Beaudart C., Rizzoli R., Bruyere O. et al.* Sarcopenia: Burden and challenges for Public Health // Arch. Publ. Hlth. 2014. Vol. 72. P. 45.

5. *Beaudart C., Reginster J.Y., Slomian J. et al.* Estimation of sarcopenia prevalence using various assessment tools // Exp. Geront. 2015. Vol. 61. P. 31–37.

6. *Beaudart C., Zaaria M., Pasleau F. et al.* Health Outcomes of Sarcopenia: A Systematic Review and Meta-Analysis // PLoS ONE. 2017. Vol. 12. № 1. e0169548.

7. Buckinx F., Rolland Y., Reginster J.-Y. et al. Burden of frailty in the elderly population: perspectives for a public health challenge // Arch. Publ. Hlth. 2015. Vol. 73. № 1. P. 19.

8. Cao L., Morley J.E., Rosenberg H. et al. Sarcopenia Is Recognized as an Independent Condition by an International Classification of Disease, Tenth Revision, Clinical Modification (ICD-10-CM) Code // J. Amer. Med. Dir. Ass. Elsevier. 2016. Vol. 17. P. 675–677.

9. Chen L.-K., Liu L.-K., Woo Md. J. et al. Sarcopenia in Asia: Consensus Report of the Asian Working Group for Sarcopenia // J. Amer. Med. Dir. Ass. 2014. Vol. 15. P. 95–101.

10. Cruz-Jentoft A.J., Baeyens J.P., Bauer J.M. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People // Age Ageing. 2010. Vol. 39. P. 412–423.

11. Cruz-Jentoft A.J., Landi F., Schneider S. M. et al. Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: a systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS) // Age Ageing. 2014. Vol. 43. P. 748–759.

12. Cruz-Jentoft A.J., Bahat G., Bauer J. et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis // Age Ageing. 2019. Vol. 48. №1. P. 16–31.

13. Curcio F., Ferro G., Basile C. et al. Biomarkers in sarcopenia: a multifactorial approach // Exp. Geront. 2016. Vol. 85. P. 1–8.

14. Delmonico M.J., Harris T.B., Lee J.S. et al. Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance, and functional impairment with aging in older men and women // J. Amer. Geriat. Soc. 2007. Vol. 55 № 5. P. 769–774.

15. Dodds R.M., Syddall H.E., Cooper R. et al. Global variation in grip strength: a systematic review and meta-analysis of normative data // Age Ageing. 2016. Vol. 45. P. 209–216.

16. Dodds R.M., Granic A., Davies K. et al. Prevalence and incidence of sarcopenia in the very old: findings from the Newcastle 85+ Study // J. Cachexia, Sarcopenia and Muscle. 2017. Vol. 8. P. 229–237.

17. Janssen I., Heymsfield S.B., Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability // J. Amer. Geriat. Soc. 2002. Vol. 50. № 5. P. 889–896.

18. Landi F., Liperoti R., Russo A. et al. Association of anorexia with sarcopenia in a community-dwelling elderly population: results from the ilSIRENTE study // Europ. J. Nutr. 2013. Vol. 52. № 3. P. 1261–1268.

19. Looijaard S.M.L.M., Oudbier S.J., Reijnierse E.M. et.al. Single physical performance measures cannot identify geriatric outpatients with sarcopenia // J. Frailty Aging. 2018. doi.org/10.14283/jfa.2018.19.

20. Mayhew A.J., Amog K.S., Phillips S. et al. The prevalence of sarcopenia in communitydwelling older adults, an exploration of differences between studies and within definitions: a systematic review and meta-analyses // Age Ageing. 2019. Vol. 48. №1. P. 48–56.

21. Mijnarends D.M., Meijers J.M.M., Halfens R.J.G. et.al. Validity and Reliability of Tools to Measure Muscle Mass, Strength, and Physical Performance in Community-Dwelling Older People: A Systematic Revie // J.A.M.D.A. 2013. Vol. 14. P. 170–178.

22. Muscaritoli M., Anker S.D., ArgileÂs J. et al. Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) cachexiaanorexia in chronic wasting diseases and nutrition in geriatrics // Clin. Nutr. 2010. Vol. 29. P. 154–159.

23. Newman A.B., Kupelian V., Visser M., et al. Sarcopenia: alternative definitions and associations with lower extremity function // J. Amer. Geriat. Soc. 2003. Vol. 51. № 11. P. 1602–1609.

24. Roubenoff R. Sarcopenia and its implications for the elderly // Europ. J. clin. Nutr. 2000. Vol. 54. Suppl 3. P. S40–S47.

25. Rosenberg I. Summary comments: epidemiological and methodological problems in determining nutritional status of older persons // Amer. J. clin. Nutr. 1989. Vol. 50. P. 1231–1233.

26. Sousa-Santos A. R., Amaral T.F. Differences in handgrip strength protocols to identify sarcopenia and frailty — a systematic review // BMC Geriat. 2017. Vol. 17. № 1. P. 238

27. Steenman M., Lande G. Cardiac aging and heart disease in humans // Biophys. Rev. 2017. Vol. 9. № 2. P. 131–137.

28. Studenski S.A., Peters K.W., Alley D.E. et al. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2014. Vol. 69. P. 547–558.

29. Woods J.L., Iuliano-Burns S., King S.J. et al. Poor physical function in elderly women in low-level aged care is related to muscle strength rather than to measures of sarcopenia // Clin. Interv. Aging. 2011. Vol. 6. P. 67–76.

Поступила в редакцию 26.12.2018
После доработки 29.05.2019
Принята к публикации 04.06.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 882–888

J. A. Safonova[1, 2], *G. M. Glazunova*[1]

DIAGNOSTIC CRITERIA AND THE PREVALENCE OF SARCOPENIA IN THE ELDERLY

[1] I. I. Mechnikov Northwest State Medical University, 41 Kirochnaya str., St. Petersburg 191015,
e-mail: jula_safonova@mail.ru; [2] Rheumatic Clinical Hospital № 25, 30 Bolshaya Podiacheskaya str.,
St. Petersburg 190068

The purpose of the study was to assess the prevalence of sarcopenia in people over 65 years of age, to analyze instrumental and functional methods for studying skeletal muscle in the elderly. A case-control study of 230 participants 65 years of age and older, the average age of 74±6,5 years. Patients were divided into three age groups: 1st — 65–74 years old, 2nd — 75–84 years old, 3rd — 85 years and older. The calculation of muscle mass was carried out according to the index of appendicular muscle mass (AMM/m^2) using dual-energy *x*-ray absorptiometry (DXA) with correction of patient growth. Muscle strength was measured with a «Jamar» hand dynamometer, muscle function was determined using a short set of physical activity tests (SPPB tests). The prevalence of sarcopenia was 30% in the presented sample and increased with increasing age of patients. There were no significant differences in the incidence of the most common chronic diseases, with the exception of obesity, which was less common in sarcopenic patients than in non-sarcopenic patients (p<0,0001). The results of the study showed that in sarcopenic patients, the AMM index (p<0,001) and muscle strength (p<0,001) were lower than in non-sarcopenic patients. The overall score of SPPB tests was low in both groups, however, in sarcopenic patients it was significantly lower than in non-sarcopenic patients (p=0,035) due to balancing tests.

Key words: *sarcopenia, muscle function, advanced age*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 314.4:78.071«19»

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 889–900

Г. М. Жаринов [1], А. И. Михальский [2], Н. Ю. Некласова [1], В. Н. Анисимов [3]

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И НЕКОТОРЫЕ ПРИЧИНЫ СМЕРТИ МУЗЫКАНТОВ XX ВЕКА

[1] Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А. М. Гранова, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 70, e-mail: asatur15@mail.ru; [2] Институт проблем управления РАН, 117997, Москва, ул. Профсоюзная, 65, e-mail: mikhalsk@rssi.ru; [3] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, e-mail: aging@mail.ru

В статье представлены сведения о продолжительности жизни и некоторых причинах смерти музыкантов, родившихся в XX в. Средний возраст смерти (СВС) 20 218 мужчин-музыкантов составил 67,8 года, а 4 363 музыкантов женщин — 71,5 года. Классические музыканты, как мужчины, так и женщины, жили дольше исполнителей джаза, поп- и эстрадной музыки (на 6,3 и 9,7 года соответственно) и намного дольше, чем рок-музыканты (на 21,7 и 30,7 года соответственно). Из «классиков» дожили до 90-летия 10,8% мужчин и 21,5% женщин, из джазовых и эстрадных музыкантов — 5,4 и 9,2% соответственно, рок-исполнители до 90 лет почти не доживали (0,4% мужчин и женщин). 9 100 мужчин музыкантов классического жанра жили на 3,5 года меньше, чем 2 339 «классиков»-женщин, СВС джазовых и эстрадных музыкантов не различался у мужчин (7 974) и женщин (1 770), а у 254 рок-музыкантов женщин он оказался на 5,5 года меньше, чем у мужчин (3 144). Частота самоубийств, смертей от несчастных случаев, убийств и злокачественных опухолей была максимальной у рок-музыкантов, а минимальной — у «классиков». Время наступления этих событий также зависело от жанра музыки. Приводятся данные о музыкантах XX в., достигших возраста 101 год.

Ключевые слова: музыканты, средний возраст смерти, долгожители, суицид, насильственная смерть, рак

Повсеместно наблюдаемое в последние годы существенное увеличение доли людей пожилого и старческого возраста в структуре населения нашей планеты обусловлено прежде всего изменениями социально-экономических условий, образа жизни [7, 41]. Об этом свидетельствуют данные о существенных различиях в продолжительности жизни представителей разных профессий [1–4, 12, 13, 16, 18]. В частности, было показано, что продолжительность жизни джазменов меньше, чем исполнителей классической музыки [36]. Отмечают, что профессии музыканта свойственно состояние стресса, связанное с такими факторами, как публичность, страх перед сценой, постоянное нахождение под критической оценкой дирижера и публики, необходимость соответствовать высоким ожиданиям, а также соматическими проблемами, среди которых боли различной локализации, нарушения чувствительности, двигательной моторики и координации [25, 39]. Установление специфического характера проблем со здоровьем в среде профессиональных музыкантов, а также увеличение их частоты привело к появлению новой медицинской специальности — музыкальной медицины (music medicine) [9, 32, 35].

XX в. характеризуется жанровым разнообразием музыки — джаз, родившийся в начале века, рок, появившийся в начале 50-х гг., наряду с классической музыкой сопровождали все события века. В связи с бурным развитием интернета уже в начале нынешнего XXI в. возникла новая ситуация, характеризующаяся лавинообразным ростом информации, что относится, прежде всего, к Википедии. Запущенная в январе 2001 г. Википедия сейчас является самым крупным и наиболее популярным справочником в интернете. По объёму сведений и тематическому охвату Википедия считается самой полной энциклопедией из когда-либо создававшихся за всю историю человечества. На май 2018 г. Википедия содержала более 40 млн статей. Интернет-сайт Википедии является пятым по посещаемости сайтом в мире и широко используется в качестве справочника [6].

В результате этого стали доступными сведения о всех сколько-нибудь значимых личностях, в том числе музыкантах. В 2008 г. мы начали систематический сбор информации, содержащейся в Википедии, в 2019 г. база данных «Личности энциклопедии» зарегистрирована в Реестре баз данных [11]. Ко времени написания этой статьи база содержала информацию более чем о 660 тыс. человек и постоянно пополняется.

Качественно новая ситуация позволила существенно увеличить объемы анализируемого материала и, соответственно, повысить репрезентативность исследования. Следует отметить, что в литературе отсутствуют работы, в которых бы рассматривались показатели продолжительности жизни и долголетия в больших выборках музыкантов и композиторов. Максимальное число композиторов (1 110) было в работе [26], тогда как в большинстве публикаций сравниваемые группы музыкантов не превышали 200 человек [10, 24, 30].

В статье [12] нами были представлены данные о среднем возрасте смерти (СВС) и долгожительстве 8 775 музыкантов (7 371 мужчина и 1 404 женщины). В настоящей работе мы оценили СВС и показатели долгожительства у музыкантов, родившихся в XX в. (20 218 мужчин и 4 363 женщины, всего — 24 581 человек). Кроме указанных параметров, были изучены некоторые причины смерти в этих когортах.

Материалы и методы

Источником основной части информации были русско- и англоязычные сайты Википедии «По странам» и «По алфавиту», относящиеся к музыкантам, а также русско- и англоязычные сайты «Родившиеся в … году», начиная с 01 января 1900 г., русско- и англоязычные сайты «Категория умершие в … году», «Список умерших в …году» до 15 февраля 2019 г. включительно [5, 6, 15]. В базу данных [11] включены сведения о людях с установленными датами (годами) рождения и смерти, анализ носил предварительный характер. Использовали только показатели продолжительности жизни без учета особенностей социально-экономического развития разных стран. Все музыканты, в зависимости от жанра исполняемой ими музыки, разделялись на три категории: 1) классика; 2) джаз, поп, эстрада; 3) рок. В тех случаях, когда классические музыканты занимались джазом или эстрадой, их относили ко второй группе (джаз, поп, эстрада); музыканты, совмещавшие джаз, эстраду и рок, были включены в третью группу (рок).

В каждой категории определяли (отдельно для мужчин- и женщин-музыкантов разных жанров) СВС, а также стандартную ошибку среднего арифметического ($M \pm m$). Кроме того, в каждой группе устанавливали долю долгожителей, проживших 90 лет и более (90+), а также 100 лет и более (100+). Отдельно были оценены такие показатели, как абсолютное и относительное число насильственных смертей, причиной которых были несчастные случаи, самоубийства и убийства, а также СВС лиц в каждой из указанных категорий. Среди причин смерти учитывали также опухоли.

Достоверность различий показателей между группами определяли по методу Фишера—Стьюдента и χ^2 [8]. Расчеты проводили с помощью статистического пакета SPSS 22. Гипотеза о том, что женщины живут столько же, что и мужчины, проверялась путём вычисления z — статистики в каждой из трёх групп музыкантов.

Результаты и обсуждение

СВС 20 218 мужчин — профессиональных музыкантов, родившихся в XX в., составил 67,8 года, а 4 363 женщин-музыкантов — 71,5 года, что на 3,8 года больше. Как это видно из сопоставления доверительных интервалов, различия значений СВС музыкантов различных жанров обоего пола статистически достоверны. Этот вывод подтверждается и оценкой вероятности наблюдать значения СВС в предположении, что различий нет (величина p-value). Для музыкантов различных жанров обоего пола эти вероятности были исчезающе малы и не превышали значения 0,0001.

Исполнители классической музыки, как мужчины, так и женщины, жили в среднем дольше исполнителей джаза, поп- и эстрадной музыки (на 6,3 и 9,7 года соответственно) и намного дольше, чем рок-музыканты (на 21,7 и 30,7 года соответственно). Доля «классиков» обоего пола, достигших 90-летия, существенно превышала этот показатель для поп- и рок-музыкантов (*табл. 1*). При рассмотрении СВС представителей различных музыкальных жанров были выявлены существенные гендерные различия. Так, если мужчины «классического» направления жили на 3,5 года меньше, чем женщины, то противоположную картину наблюдали у рок-музыкантов: СВС исполнительниц рока оказался на 5,5 года меньше, чем у мужчин этой категории (*рис. 1*).

Из 9 984 мужчин — исполнителей классической музыки — дольше всех жили органисты (76,4 года), дирижёры (76 лет) и скрипачи (76 лет), а меньше других — ударники (71,6 года), *табл. 2*. Доля проживших 90+ лет была выше у скрипачей (15,3 %), виолончелистов (14,3 %) и органистов (13,4 %), минимальной — у удар-

ников (7,3 %), а проживших 100+ лет — максимальной у виолончелистов (1,7 %) и органистов (1,2 %). Ни один музыкант-мужчина, игравший на арфе, контрабасе или клавесине, не дожил до своего столетия.

Из 2 589 женщин этой группы музыкантов максимальные показатели СВС были у органисток (84,5 года), дирижёров (82,9 года) и клавесинисток (81,6 года), а минимальные — у виолончелисток (72,3 года). Доля долгожителей (90+ лет) была выше у органисток (35,3 %), дирижёров (34,4 %) и арфисток (33,3 %), а наименьшей — у клавесинисток (13,8 %). Ни одна из женщин, игравших на гитаре, духовых инструментах или клавесине, не перешагнула 100-летнего рубежа.

Сравнение показателей СВС у мужчин и женщин одной специализации не выявило различий у игравших на виолончели, гитаре, духовых и скрипке, а также у композиторов, тогда как певицы, женщины-дирижёры, пианистки, арфистки и клавесинистки жили достоверно дольше своих коллег-мужчин. Доля долгожительниц-женщин исполнительниц классического репертуара по всем рассмотренным специализациям была выше, чем мужчин.

Достоверных различий СВС певцов-мужчин в диапазоне от баса до тенора не было выявлено, у контратеноров отмечено снижение СВС по отношению к среднему значению СВС у всех певцов-мужчин *(табл. 3)*. Певицы обладательницы колоратурного сопрано жили дольше других ($p<0,03$), что согласуется с наблюдениями, показавшими, что у певиц контральто меньше СВС по сравнению с сопрано [19]. Авторы предполагают, что причиной большего СВС певиц по сравнению с певцами-мужчинами является более высокий уровень эстрогенов, оказывающих значительный эффект. Установлено, что у мужчин-музыкантов уровень тестостерона в крови ниже, а у женщин выше, чем у соответствующих контрольных групп [31]. Интересно, что уровень мелатонина в крови у музыкантов был выше, чем у немузыкантов. Также предполагается, что высокий уровень эстрогенов в крови певиц колоратурного сопрано определяет большую продолжительность их жизни по сравнению с контральто и меццо-сопрано.

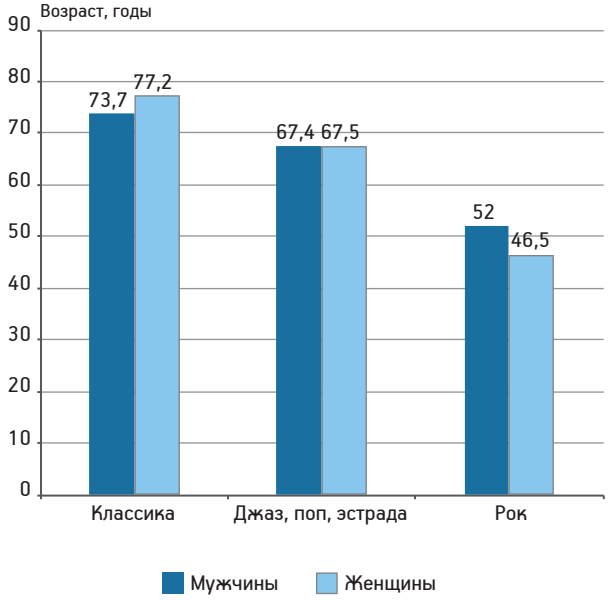


Рис. 1. Средний возраст смерти музыкантов разных жанров

Дирижёры-мужчины и женщины классического репертуара жили на 3,7 и 6,5 года дольше композиторов того же пола соответственно, которые продлевали свою жизнь, взяв в руки дирижёрские палочки (*табл. 4*, *рис. 2*).

Таблица 1

Средний возраст смерти (СВС) и долгожительство музыкантов XX в. с учетом жанра музыки

Жанр	Число наблюдений	СВС, лет (95% ДИ)	90+		100+	
			абс. число	%	абс. число	%
Мужчины						
Классика	9 100	73,7 (73,4; 74)	986	10,8	50	0,5
Джаз, поп, эстрада	7 974	67,4 (67; 67,7) 1)*	428	5,4	28	0,4
Рок	3 144	52,0 (51,5; 52,6) 1)*	12	0,4	0	0
Женщины						
Классика	2 339	77,2 (76,5; 77,9) 2)*	504	21,5	51	2,1
Джаз, поп, эстрада	1 770	67,5 (66,6; 68,3) 1)*	163	9,2	9	0,5
Рок	254	46,5 (44,4; 48,6) 1)*, 2)*	1	0,4	0	0

1)* Различие с соответствующим показателем для исполнителей классической музыки достоверно, $p<0,0001$; 2)* различие с соответствующим показателем для мужчин достоверно, $p<0,05$.

Таблица 2

Средний возраст смерти (СВС) и долгожительство композиторов и музыкантов — исполнителей классической музыки

Инструмент/ специальность	Число наблюдений	СВС, лет (95% ДИ)	*p*	90+		100+	
				абс. число	%	абс. число	%
Мужчины							
Орган	406	76,4 (75; 77,7)	0,0001 [3)*]	55	13,6	5	1,2
Дирижёр	1 031	76,0 (75,2; 76,8)	<0,0001 [3)*]	138	13,4	7	0,7
Скрипка	687	76 (75; 77)	<0,0001 [3)*]	105	15,3	6	0,9
Клавесин	72	75,4 (72,5; 78,3)	0,12	6	8,3	0	0
Духовые	618	74,8 (73,7; 76)	0,02	78	12,6	1	0,2
Виолончель	175	74,6 (72,4; 76,9)	0,16	25	14,3	3	1,7
Контрабас	28	74,4 (68,8; 80,1)	0,39	3	10,7	0	0
Фортепьяно	1 274	73,4 (72,6; 74,3) [1)*]	0,16	130	10,2	10	0,9
Певец	1 840	72,9 (72,2; 73,5) [1)*]	0,02	169	9,2	8	0,4
Композитор	3 428	72,7 (72,2; 73,2) [1)*]	0,0001 [3)*]	328	9,6	15	0,4
Арфа	33	72,7 (68,0; 77,4)	0,35	4	12,0	0	0
Гитара	268	72,3 (70,5; 74) [1)*]	0,16	26	9,7	1	0,4
Ударные	124	71,6 (69,1; 74,2) [1)*]	0,07	9	7,3	1	0,8
Женщины							
Орган	34	84,5 (79,2; 89,8) [2)*]	0,003 [3)*]	12	35,3	3	8,8
Дирижёр	61	82,9 (79,7; 86,1) [2)*]	<0,0001 [3)*]	21	34,4	4	6,6
Клавесин	29	81,6 (78,5; 84,8) [2)*]	0,003 [3)*]	4	13,8	0	0
Арфа	39	78,6 (72,4; 84,8)	0,33	13	33,3	1	2,6
Фортепьяно	490	78,5 (77,1; 79,8) [2)*]	0,47	113	23,1	10	2,0
Певица	1 364	76,8 (75,9; 77,6) [1)*]	0,22	283	20,7	31	2,3
Скрипка	120	76,7 (73,4; 80)	0,39	34	28,3	5	4,2
Композитор	363	76,4 (74,8; 77,9) [1)*, 2)*]	0,16	60	16,5	4	1,1
Духовые	27	75,3 (68,7; 81,8)	0,28	6	22,2	0	0
Гитара	21	73,5 (64,5; 82,6)	0,21	4	19,0	0	0
Виолончель	43	72,3 (66,8; 77,9) [1)*]	0,04 [3)*]	7	16,3	1	2,3

[1)*] Различие с соответствующим показателем для исполнителей-органистов достоверно, $p<0,0001$; [2)*] различие с соответствующим показателем для мужчин достоверно, $p<0,05$; [3)*] при сравнении с СВС без учета специализации, равном 73,7 года у мужчин и 77,2 года у женщин.

Таблица 3

Средний возраст смерти (СВС) «классических» певцов с учетом тембра голоса

Голос	Число наблюдений	СВС, лет (95% ДИ)	*p*
Мужчины			
Бас	253	72,3 (70,7; 73,9)	0,2
Баритон	380	73,3 (71,9; 74,7)	0,4
Тенор	441	73 (71,8; 74,2)	0,5
Контратенор	10	63,2 (51,3; 74,9)	0,05 [2)*]
Женщины			
Меццо-сопрано	176	76,6 (74,4; 78,8)	0,1
Контральто	77	78 (74,3; 81,7)	0,5
Сопрано	451	78,1 (76,7; 79,5) [1)*]	0,5
Колоратурное сопрано	92	81,1 (78; 84,2) [1)*]	0,03

[1)*] Различие с соответствующим показателем для мужчин достоверно; [2)*] $p<0,05$.

Рок-музыканты, как мужчины, так и женщины, находятся в зоне повышенного риска: они значительно чаще, чем исполнители классического репертуара, кончают жизнь самоубийством, становятся жертвой несчастных случаев или убийств, причем у рок-музыкантов эти события происходят в значительно более молодом возрасте. У них также выше смертность от злокачественных новообразований, а СВС умерших от рака меньше, чем в контрольной группе (*табл. 5, 6*).

В *табл. 7* включены музыканты, жившие в XX в. и достигшие возраста 101 год. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что соотношение мужчин и женщин было одинаковым у проживших 110 лет и более (двое мужчин и две женщины). 105 лет и более прожили 15 мужчин и 12 женщин, 101 года и более достигли 61 мужчина и 55 женщин. 75 из 114 музыкантов (64,7 %),

Таблица 4

Средний возраст смерти (СВС) и долгожительство классических дирижеров и композиторов с учетом специализации

Специализация	Число наблюдений	СВС, лет (95% ДИ)	*p*	90+	
				абс. число	%
Мужчины					
Дирижёры	1 031	76 (75,2; 76,8)	$7 \cdot 10^{-7}$ [3)*]	138	13,4
Композиторы-дирижёры	1 094	75,4 (74,6; 76,2)	0,0005[3)*]	138	12,6
Композиторы	3 428	72,7 (72,2; 73,2) [1)*]	0,0002[3)*]	328	9,6
Женщины					
Дирижёры	61	82,9 (79,8; 86) [2)*]	0,001[3)*]	21	34,4
Композиторы-дирижёры	30	79,1 (73,6; 84,6)	0,3	6	20
Композиторы	363	76,4 (74,8; 78) [1)*,2)*]	0,05[3)*]	60	16,5

[1)*] Различие с соответствующим показателем для исполнителей классической музыки достоверно, $p<0,0001$; [2)*] различие с соответствующим показателем для мужчин достоверно, $p<0,05$; [3)*] при сравнении с СВС без учета специализации, равном 73,8 года.

упомянутых в табл. 7, исполняли классическую музыку, ни один рок-музыкант не достиг 101-летнего возраста.

В ряде исследований получены данные, свидетельствующие о положительном влиянии классической музыки на состояние здоровья пожилых людей. Показано, что музыка И. С. Баха является безопасным и легким способом преодоления бессонницы [29]. Музыка позднего барокко способствует увеличению продукции и выделению дофамина в головном мозге, улучшает память и способствует межполушарной синхронизации ритмов ЭЭГ головного мозга [22]. Прослушивание цикла «Времена года» А. Вивальди положительно влияло на выполнение когнитивных задач пожилыми людьми [33]. В работах [12] и [36] было показано, что профессиональные музыканты-исполнители классической музыки живут значительно дольше, чем музыканты, исполняющие рок и джаз. Было также выявлено, что исполнение клас-

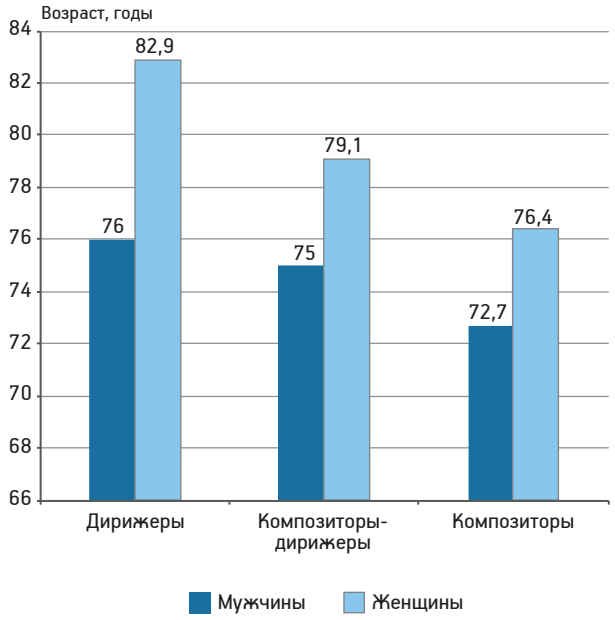


Рис. 2. Средний возраст смерти классических дирижеров и композиторов

Таблица 5

Некоторые причины смерти музыкантов разных жанров

Жанр	Число наблюдений	Самоубийства		Несчастные случаи		Насильственная смерть		Рак	
		абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Мужчины									
Классика	9 100	56	0,6	158	1,7	93	1	354	3,9
Джаз, поп, эстрада	7 974	111	1,4	285	3,6	109	1,4	975	12
Рок	3 144	194	6,2[1)*]	294	9,4[1)*]	134	4,3[1)*]	629	20
Женщины									
Классика	2 339	16	0,7	47	2	14	0,6	153	6,5
Джаз, поп, эстрада	1 770	51	2,9	69	3,9	27	1,5	345	19,5[1)*]
Рок	254	15	5,9[1)*]	38	15[1)*,2)*]	12	4,7[1)*]	73	28,7[1)*,2)*]

[1)*] Различие с соответствующим показателем для исполнителей классической музыки достоверно; [2)*] различие с соответствующим показателем для мужчин достоверно, $p<0,05$.

Таблица 6

Средний возраст смерти (СВС) музыкантов разных жанров с учетом некоторых причин смерти

Жанр	СВС, лет (95% ДИ)			
	самоубийцы	несчастные случаи	насильственная смерть	рак
Мужчины				
Классика	52 (48,1; 55,9)	50,3 (48; 52,6)	37,9 (35,7; 40,1)	65,9 (64,5; 67,3)
Джаз, поп, эстрада	46,9 (44,2; 49,6)	44,8 (42,8; 46,8) [1)*]	40,6 (38,2; 43)	65,4 (64,6; 66,2)
Рок	37,7 (36,1; 39,3) [1)*]	38,1 (36,5; 39,7) [1)*]	34,5 (32,7; 36,3)	57,1 (56,1; 58,1) [1)*]
Женщины				
Классика	45,2 (37,4; 53)	47,2 (41,9; 52,5)	36,2 (28,4; 44)	57,9 (55,2; 60,6)
Джаз, поп, эстрада	42 (38,5; 45,5)	38,6 (35,5; 41,7) [1)*, 2)*]	35 (29,9; 40,1)	60 (58,4; 61,6) [2)*]
Рок	35,7 (30,6; 40,8)	34,1 (30; 38,2) [1)*]	29,7 (22,6; 36,8)	50,9 (48; 53,8) [1)*, 2)*]

[1)*] Различие с соответствующим показателем для исполнителей классической музыки достоверно; [2)*] различие с соответствующим показателем для мужчин достоверно, $p<0,05$.

Таблица 7

Музыканты XX в., достигшие возраста 101 год

№	Имя	Пол	Голос/инструмент	Жанр	Страна	Годы жизни	Возраст смерти, лет
1.	Piotrowski Józef	М	орган	классика	Польша	1887–2005	118
2.	Gaudette M.-J.	Ж	певица, монахиня	»	США, Италия	1902–2017	115
3.	Herz-Sommer Alice	Ж	фортепьяно	»	Австро-Венгрия, Чехословакия, Израиль	1903–2014	110
4.	Алы Гызылвенкли	М	певец, ашуг	классика, эпос	Эриванское ханство, Россия	1801–1911	110
5.	Khan Allauddin	М	композитор, сарод	классика	Индия	1862–1972	109
6.	Ornstein Leo	М	композитор, фортепьяно	»	США	1893–2002	108
7.	Cuénod H.-A.	М	певец, тенор	»	Швейцария	1902–2010	108
8.	Heesters Johannes	М	певец, тенор	эстрада	Нидерланды, Австрия	1903–2011	108
9.	Rio Rosa	Ж	фортепьяно, орган	классика	США	1902–2010	107
10.	Khan Abdul Rashid	М	певец	»	Индия	1908–2016	107
11.	Douglas Roy	М	композитор, фортепьяно	»	Великобритания	1907–2015	107
12.	Pintorno Vincenzo Maria	М	дирижер, флейта	»	Италия	1862–1968	106
13.	Lehtinen Eino	М	певец, орган	»	Финляндия	1900–2007	106
14.	Zielinska Izabella	Ж	фортепьяно	»	Польша	1910–2017	106
15.	Andy Katja	Ж	фортепьяно	»	Германия, США	1907–2013	106
16.	Maazel Lincoln	М	певец, актер	классика, мюзикл	США	1903–2009	106
17.	Ellis Mary	Ж	певица (сопрано), актриса	классика	»	1897–2003	105
18.	Kobayashi Haru	Ж	певица, сямисэн	классика (фолк)	Япония	1900–2005	105
19.	Matkovic Draga	Ж	фортепьяно	классика	Германия	1907–2013	105
20.	Aleman Fedora	Ж	певица, сопрано	»	Венесуэла	1912–2018	105
21.	Tania (tango singer)	Ж	певица	эстрада (танго)	Испания	1893–1999	105

Продолжение табл. 7

№	Имя	Пол	Голос/инструмент	Жанр	Страна	Годы жизни	Возраст смерти, лет
22.	Ашуг Алескер	М	певец, ашуг	классика, эпос	Эриванское ханство, Россия	1821–1926	105
23.	Ibáñez Chicho	М	певец, гитара, маракасы	эстрада	Куба	1875–1981	105
24.	Goossens Sidonie	Ж	арфа	классика	Нидерланды	1899–2004	105
25.	Long Huey	М	певец, гитара	джаз	США	1904–2009	105
26.	Albanese Licia	Ж	певица, сопрано	классика	Италия, США	1909–2014	105
27.	Carlisle Mary	Ж	певица, актриса	классика, мюзикл	США	1914–2018	104
28.	Dassy Deva	Ж	певица, меццо-сопрано	классика	Франция	1911–2016	104
29.	Olivero Magda	Ж	певица, сопрано	»	Италия	1910–2014	104
30.	Mainer Wade	М	певец, банджо	блюграсс	США	1907–2011	104
31.	Marjane Leo	Ж	певица	эстрада,	Франция	1912–2016	104
32.	Shea George Beverly	М	певец	госпел	Канада	1909–2013	104
33.	Bierman Bernard	М	композитор	поп, эстрада	США	1908–2012	104
34.	Capuis Matilde	Ж	композитор, фортепьяно, орган	классика	Италия	1913–2017	104
35.	Lindtner Randi	Ж	певица, актриса	эстрада, мюзикл	Норвегия	1905–2009	104
36.	Xaço Karapetê	М	певец	курдский фолк	Османская империя, Армения	1900–2005	104
37.	Lang Margaret Ruthven	Ж	композитор	классика	США	1867–1972	104
38.	Leonard Conrad	М	композитор, фортепьяно	»	Великобритания	1898–2003	104
39.	Adair Janet	Ж	певица (контральто), актриса	»	США	1901–2005	104
40.	Khan Gul Mohammad	М	певец	»	Индия, Бангладеш	1876–1979	103
41.	Kitchell Alma	Ж	певица, фортепьяно	»	США	1893–1996	103
42.	Le Flem Paul	М	композитор, дирижер	»	Франция	1881–1984	103
43.	Bloesch-Stöcker Adele	Ж	композитор, скрипка	»	Швейцария, Германия	1875–1978	103
44.	Meany Mary K.	Ж	фортепьяно	»	США	1897–2000	103
45.	Delavrancea Cella	Ж	фортепьяно	»	Румыния	1887–1991	103
46.	Tapia Bill	М	певец, гитара	джаз	США	1908–2011	103
47.	Lucca Quique	М	дирижер, скрипач	эстрада	Пуэрто-Рико, США	1912–2016	103
48.	Carter Elliott Cook	М	композитор	классика	США	1908–2012	103
49.	Andreja Preger	М	пианист	»	Австро-Венгрия, Югославия, Сербия	1912–2015	103
50.	Gaston Teddy Getty	Ж	певица	джаз, эстрада	США	1913–2017	103
51.	H. Owen Reed	М	композитор, дирижер	классика	»	1910–2014	103
52.	Moreno Buddy	М	певец, гитара	джаз	»	1912–2015	103
53.	Hokanson Randolph	М	пианист	классика	»	1915–2018	103

Продолжение табл. 7

№	Имя	Пол	Голос/инструмент	Жанр	Страна	Годы жизни	Возраст смерти, лет
54.	Morison Patricia	Ж	певица, актриса	эстрада, мюзикл	»	1915–2018	103
55.	Vincent Jenny	Ж	певица, фортепьяно, аккордеон	фолк	»	1913–2016	103
56.	Ferbos Lionel Charles	М	труба	джаз	»	1911–2014	103
57.	de Mello Jack	М	композитор	классика	»	1916–2019	102
58.	Митева-Коралова И.	Ж	певица, сопрано	»	Болгария	1911–2013	102
59.	Dunicz-Niwinska Helena	Ж	скрипка	»	Польша	1915–2018	102
60.	Labouisse È. D. C.	Ж	фортепьяно	»	Польша	1904–2007	102
61.	Lester Bob	М	певец	эстрада, поп	Бразилия	1913–2015	102
62.	Hope Dolores	Ж	певица	эстрада	США	1909–2011	102
63.	Omar Nelly	Ж	певица, актриса	эстрада (танго)	Аргентина	1911–2013	102
64.	Колесса Н. Ф.	М	композитор, дирижер	классика	Австро-Венгрия, СССР, Украина	1903–2006	102
65.	Tortorich Mary	Ж	певица, сопрано	»	США	1914–2017	102
66.	von Zieritz Grete	Ж	композитор, фортепьяно	»	Австро-Венгрия, Германия	1899–2001	102
67.	Teddlie Tillit Sidney	М	композитор, священник	»	США	1885–1987	102
68.	Barnett Etta Moten	Ж	певица (контральто), актриса	классика, мюзикл	»	1901–2004	102
69.	Gilbert Peggy	Ж	дирижер, саксофон	джаз	»	1905–2007	102
70.	Galla-Rini Anthony	М	композитор, дирижер	классика	»	1904–2006	102
71.	Blackstone T. R.	Ж	певица	фолк	»	1882–1985	102
72.	Dickson Dorothy	Ж	певица, актриса	мюзикл	США, Великобритания	1893–1995	102
73.	Лернер Д. М.	М	фортепьяно	классика	СССР, Россия	1909–2012	102
74.	Manheim Ernest	М	композитор	»	Австро-Венгрия, США	1900–2002	102
75.	Uncle Osborne Charlie	М	скрипка	кантри	США	1890–1992	101
76.	Torrealba Juan Vicente	М	композитор, арфа	фолк	Венесуэла	1917–2019	101
77.	Fields Irving	М	фортепьяно	легкая музыка	США	1915–2016	101
78.	Solberg Leif	М	композитор, дирижер, орган	классика	Норвегия	1914–2016	101
79.	García M. P. R.	М	певец (бас)	»	Испания, Великобритания	1805–1906	101
80.	Bragato José	М	композитор, дирижер, виолончель	»	Аргентина	1915–2017	101
81.	Deer E. L. G.	Ж	певица	фолк	США	1891–1992	101
82.	Trevitt Harry Smith	М	композитор, орган	классика	Великобритания	1878–1979	101
83.	Stark Ethel	Ж	дирижер, скрипка	»	Канада	1910–2012	101
84.	Zadek Hilde	Ж	певица, сопрано	»	Германия	1917–2019	101

Окончание табл. 7

№	Имя	Пол	Голос/инструмент	Жанр	Страна	Годы жизни	Возраст смерти, лет
85.	Büsser Henri	М	композитор, дирижер, орган	»	Франция	1872–1973	101
86.	Cigna Gina	Ж	певица, сопрано	»	Франция, Италия	1900–2001	101
87.	Aïtoff Irène	Ж	фортепьяно	»	Франция	1904–2006	101
88.	Bryant Slim	М	певец, гитара	кантри	США	1908–2010	101
89.	Слонимский Н. Л.	М	композитор, дирижер	классика	Россия	1894–1995	101
90.	Thompson Ulysses	М	певец	эстрада	США	1888–1990	101
91.	Berlin Irving	М	композитор, фортепьяно	джаз, мюзикл	Россия, США	1888–1989	101
92.	Salpete Max	М	скрипка	классика	Великобритания	1908–2010	101
93.	Cole Orlando	М	виолончель	»	США	1908–2010	101
94.	Семенченко Г. П.	Ж	певица, сопрано	классика, оперетта	Россия	1909–2011	101
95.	Respighi Elsa	Ж	Композитор, певица	классика	Италия	1894–1996	101
96.	Rév Lívia	Ж	фортепьяно	»	Венгрия, Франция	1916–2018	101
97.	Eggerth Marta	Ж	певица (сопрано), актриса	оперетта	Венгрия, США	1912–2013	101
98.	Sawyer Ivy	Ж	певица, актриса	мюзикл	США	1898–1999	101
99.	Lawrence Lucie	М	гитара	джаз	»	1907–2009	101
100.	Caesar Irving	М	композитор	мюзикл, эстрада	»	1895–1996	101
101.	Masanetz Guido	М	композитор, дирижер	мюзикл, оперетта	Австро-Венгрия, Германия	1914–2015	101
102.	Garay Sindo	М	композитор, певец, гитара	фолк	Куба	1867–1968	101
103.	Chang Ch'ung-ho	Ж	певица, сопрано	классика	Китай, США	1914–2015	101
104.	Michelet Michel	М	композитор	музыка для кино	США	1894–1995	101
105.	Fedorova Maria Zhorella	Ж	певица, сопрано	классика	Австрия, США	1915–2017	101
106.	Toi Roman	М	композитор, дирижер, орган	»	Эстония, Канада	1916–2018	101
107.	Sherman Jane	Ж	композитор	мюзикл	США	1908–2010	101
108.	Moyse B. H.	Ж	дирижер	классика	Швейцария, США	1909–2011	101
109.	Shepherd Shep	М	композитор, певец, гитара	джаз	США	1917–2018	101
110.	Moore Vera	Ж	фортепьяно	классика	Новая Зеландия	1896–1997	101
111.	Totenberg Roman	М	скрипка	»	Польша, США	1911–2012	101
112.	Davis Jimmie	М	певец	джаз, эстрада	США	1899–2000	101
113.	Simons Ed	М	дирижер, скрипка	классика	»	1917–2018	101
114.	Валицкая М. Г.	Ж	певица, сопрано	»	Россия	1853–1955	101

сической музыки скрипачами, пианистами и певцами наиболее благоприятным образом сказывается на продолжительности жизни как мужчин, так и женщин, тогда как исполнение рок-музыки — укорачивает её [12, 28]. Так, в Северной Америке и странах Европейского Союза СВС 1 489 рок-музыкантов и исполнителей поп-музыки составил 45,2 и 39,6 года у мужчин и женщин соответственно [21]. Установлено, что рок-музыка вызывает агрессию, способствует возникновению депрес-

сивных состояний, формирует социальную изоляцию, способствует развитию аритмии и других нарушений функций сердечно-сосудистой системы [17, 23]. Рок-музыканты чаще злоупотребляют алкоголем [24]. Возможно, что все эти факторы способствуют увеличению частоты суицидов, случаев насильственной смерти и злокачественных новообразований [14, 37].

Физиологические механизмы влияния различных музыкальных жанров подробно рассмотрено в работе М. Дымниковой [10]. У исполнителей классической музыки дольше сохраняются память, познавательные способности по сравнению с джазменами и рок-музыкантами [9, 27, 38].

Было показано, что наступление творческой зрелости в раннем возрасте у композиторов не способствует долголетию [26]. Исследование ментальных способностей музыкантов и немузыкантов не выявило принципиальных различий между ними [30]. Тем не менее, имеются убедительные доказательства, что классическая музыка улучшает состояние онкологических пациентов, тогда как рок ухудшает его [40].

Таким образом, значительный объем нашей базы данных [11] существенно повысил надежность полученных результатов и в целом подтвердил более ранние наблюдения, как наши, так и выполненные другими исследователями [12, 13, 20, 33, 34].

Следует отметить, что доля долгожителей (90+ лет) была максимальной у женщин-исполнительниц классической музыки (21,5 %) и минимальной у рок-музыкантов (0,4 %), у мужчин — 10,8 и 0,4 % соответственно.

СВС мужчин классического жанра был на 3,5 года меньше, чем соответствующий показатель у женщин. Неожиданным было наблюдение, что СВС рок-музыкантов женщин был на 5,5 года меньше, чем мужчин. Можно предположить, что такая «гендерная инверсия» обусловлена меньшей устойчивостью женского организма к действию алкоголя, наркотических средств и в целом к особенностям образа жизни рок-музыкантов. Однако нельзя исключить, что это определяется и иными обстоятельствами, о чем будет сказано ниже.

Статистический анализ не выявил достоверных гендерных различий средних показателей СВС для мужчин и женщин, играющих на одинаковых музыкальных инструментах [10].

При оценке СВС и долгожительства у классических музыкантов разных специализаций были установлены некоторые различия, в том числе достигавшие достоверного уровня. В частности, были выявлены виды профессиональной музыкальной деятельности, являющиеся наиболее благоприятными для долголетия человека: у мужчин это дирижирование и игра на органе или клавесине, а у женщин — дирижирование, игра на органе, клавесине и арфе. Эти результаты могут стать отправной точкой для дальнейших клинических исследований по определению и выявлению динамики физиологических функций и геронтологических изменений в организме человека [10, 12]. Причины этих различий неизвестны, тогда как расшифровка механизмов этих феноменов может дать важную информацию.

Нами впервые было изучено влияние музыкальной субспециализации на СВС и долгожительство. Композиторы и дирижеры выбраны только потому, что эти когорты были самыми репрезентативными. Самый простой ответ на вопрос «Почему дирижеры живут дольше композиторов?» может состоять в том, что композитор творит в одиночку, а дирижер работает всегда с коллективом, которым он, к тому же, и управляет. Физическая нагрузка дирижеров несомненно выше, чем композиторов, может быть поэтому композитор, берущийся дирижировать, прибавляет себе годы жизни. Интересно отметить, что аналогичный, но направленный в противоположную сторону феномен наблюдается у поэтов и писателей. Писатели живут дольше поэтов, но писатели, которые «грешат» стихами, укорачивают себе жизнь [13]. Физиологические механизмы этих феноменов неизвестны и требуют своего изучения.

Наконец, интригующим является наблюдение более высокой частоты развития злокачественных новообразований у рок-музыкантов по сравнению с исполнителями классической музыки. Мы отдаем себе отчет в том, что Википедия не является надежным источником информации о частоте злокачественных новообразований, однако в случаях, когда в источнике сообщается, что причиной смерти стала опухоль, вероятность того, что это именно так, представляется достаточно высокой. Кроме того, в определенной мере компенсирует этот недостаток и объём анализируемого материала.

Заключение

Мы установили, что по сравнению с классическими, у поп- и рок-музыкантов соответственно

снижается средний возраст смерти, повышается частота несчастных случаев, насильственных смертей, а также злокачественных опухолей, а перечисленные события наступают раньше. Не исключено, что причиной обнаруженных закономерностей являются не только особенности поведения и образа жизни музыкантов разных жанров. Можно предположить, что выбор жанра музыки, а возможно и музыкального инструмента, не является случайным. Мы планируем генетические и психологические исследования у музыкантов разных жанров и надеемся, что эта работа позволит выявить новые обстоятельства, влияющие на продолжительность жизни и причины смерти человека.

Авторы выражают глубокую признательность программисту А. С. Чиркову, создавшему систему получения и обработки информации, без которой выполнение этой работы было бы невозможным.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Алишев Н.В., Свистов А.С., Рыжман Н.Н и др. Показатели биологического возраста и ускоренность старения у ликвидаторов последствий радиационных аварий // Успехи геронтол. 2006. Т. 18. С. 110–124.

2. Анисимов В.Н., Жаринов Г.М. Продолжительность жизни и долгожительство у представителей творческих профессий // Успехи геронтол. 2013. Т. 26. № 3. С. 405–416.

3. Анисимов В.Н., Жаринов Г.М. Средний возраст смерти и долгожительство мужчин-учёных разных специальностей // Вестн. Москов. ун-та. (серия 16 «Биология»). 2016. № 4. С. 12–18.

4. Башкирева А.С. Показатели ускоренного старения у водителей автотранспорта // Успехи геронтол. 2004. Т. 14. С. 34–43

5. Большая русская биографическая энциклопедия. М.: Бизнессофт (ИДДК), 2004.

6. Википедия, свободная энциклопедия. http://ru.wikipedia.org. https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%B8%D0%BA%D0%B8%D0%BF%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D1%8F

7. Голубев А.Г. Куда нас выводит кривая Престона // Успехи геронтол. 2019. Т. 31. № 5. С. 616–627.

8. Гублер Е.Г. Количественные методы анализа результатов медицинских исследований. Л.: Медицина, 1978.

9. Дворецкий Л.И. Музыка и медицина. Размышления врача о музыке и музыкантах. М.: МЕДпресс-информ, 2014.

10. Дымникова М. Физиологические аспекты музыки и долголетия // Успехи геронтол. 2014. Т. 28. № 4. С. 645–655

11. Жаринов Г.М. Личности Энциклопедии. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620535. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных 03.04.2019 г.

12. Жаринов Г.М., Анисимов В.Н. Музыка и долголетие // Успехи геронтол. 2014. Т. 27. № 2. С. 284–290.

13. Жаринов Г.М., Анисимов В.Н. Продолжительность жизни, долгожительство и некоторые причины смерти у литераторов разных жанров // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 2. С. 210–217.

14. Караваева Т.А. Особенности эмоциональной сферы // В кн.: Онкогеронтология: Рук. для врачей / Под ред. В.Н.Анисимова, А.М.Беляева. СПб.: Изд-во АННМО «Вопросы онкологии», 2017. С. 124–146.

15. Музыкальная энциклопедия. М.: Директ-Медиа Паблишинг, 2006. LSBN: 23 800.

16. Никитина В.Н. Взаимосвязи раннего старения организма с воздействием электромагнитных излучений // Клин. геронтол. 1993 № 3. С. 14–18.

*17. Новицкая Л.П.*Влияние различных музыкальных жанров на психическое состояние человека // Психол. журн. 1984. Т. 5. № 6. С. 79–86.

18. Соленова Л.Г., Некрасова Е.А. Медицинские работники: профессиональные канцерогенные факторы и онкологический риск // Успехи молекул. онкол. 2018. Т. 5. С. 25–39.

19. Abel E.L., Kruger M.M., Pandya K. Sopranos but not tenors live longer // Aging Male. 2012. Vol. 15. P. 109–110.

20. Anisimov V.N., Zharinov G.M., Mean age of death, longevity and incidence of violent death among various elite sportsmen categories // J. Geront. Geriat. Res. 2017. Vol. 6. P. 6. Doi:10.4172/2167–7182.1000e148

21. Bellis M. A., Hughes K., Sharples O. et al. Dying to be famous: retrospective cohort study of rock and pop star mortality and its association with adverse childhood experiences // Brit. med. J. Open. 2012. Vol. 2. Pii: e002089

22. Bragdon A. D., Gamon D. Building Mental Muscle: Conditioning Exercises for the Six Intelligence Zones. Ed.: Amazon, Allen D. Bragdon Publishers, Inc. 2nd Edition, 2003.

23. Burns J., Labbé E., Williams K. et al. Perceived and physiological indicators of relaxation: as different as Mozart and Alice in chains // Appl. Psychophys. Biofeedback. 1999. Vol. 24. P. 197–202.

24. Butkovich A., Dopudj D.R., Personality traits and alcohol consumptions of classical and heavy metal musicians // Psychol. Music. 2017. Vol. 45. P. 246–256.

25. Evans H.M., Medicine and Music: Three Relations Considered // J. Med. Human. 2007. Vol. 28. P. 135–148.

26. Hafkamp M.P.J., Slaets J.P.J., Van Bodegom D. Intellectual maturity and longevity: late-bloomimg composers and writers live longer than child prodigies // Aging (Albany, NY). 2017. Vol. 9. P. 1433–1439.

27. Hanna-Pladdy B., Gajewski B. Recent and past musical activity predicts cognitive aging variability: direct comparison with general lifestyle activities // Front. Human. Neurosci. 2012. Vol. 6. Article 198. 11 p. http://dx.doi.org/10.3389/fnhum.2012.00198

28. Hanna-Pladdy B., MacKay A. The relation between instrumental musical activity and cognitive aging // Neuropsychology. 2011. Vol. 25. №. 3. P. 378–386.

29. Harmat L., Taka'cs J., Bo'dizs R. Music improves sleep quality in students // J. Adv. Nurs. 2008. Vol. 62. P. 327–335.

30. Helmbold N., Rammsayer T., Altenmueller E. Differences in primary mental abilities between musicians and nonmusicians // J. Individual Differences. 2005. Vol. 26. P. 74–85.

31. Hessler M. Music medicine. A neurobiological approach // Neuroendocr. Lett. 2000. Vol. 21. P. 101–106.

32. MacDonald R.A.R. Music, health, and well-being: A review // Int. J. Qual. Stud. Hlth Wellbeing. 2013. Vol. 8. P. 10. 3402/qhw.v8i0.20635. doi: 10.3402/qhw.v8i0.20635

33. Mammarella N., Beth Fairfield B., Cornoldi C. Does music enhance cognitive performance in healthy older adults? The Vivaldi effect // Aging Clin. Exp. Res. 2013. Vol. 19. Iss. 5. P. 394–399.

34. Nunez M.J., Mana P., Linares D. et al. Music, immunity and cancer // Life Sci. 2002. Vol. 71. P. 1047–1057.

35. Potter P.J., Jones I.C., Medical Problems affecting musicians // Can. Fam. Physic. 1995. Vol. 41. P. 2121–2128.

36. Spencer F.J. Premature death in jazz musicians: fact or fiction? // Amer. J. Publ. Hlth. 1991. Vol. 81. P. 804–805.

37. Stack S., Lester D., Rosenberg J. S. Music and suicidality: a quantative review and extension // Suicide Life Threat. Behav. 2012. Vol. 42. P. 654–671.

38. Staud R. Survival in academy award-winning actors and actresses. To the Editor // Ann. intern. Med. 2003. Vol. 138. P. 77.

39. Steele K. M. Do rats show a Mozart Effect? // Music Perseption. 2003. Vol. 11. P. 251–256.

40. Trappe H.-J. Role of music in intensive care medicine // Int. J. Critic. illness injury Sci. 2012. Vol. 2. P. 27–32.

41. World Report on Aging and Health. Geneva: WHO, 2015.

Поступила в редакцию 17.09.2019
После доработки 17.09.2019
Принята к публикации 25.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 889–900

G. M. Zharinov [1], A. I. Mikhalsky [2], N. Y. Neklasova [1], V. N. Anisimov [3]

LONGEVITY AND SOME REASONS OF DEATH OF MUSICIANS OF THE XX CENTURY

[1] Academician A. M. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, 70 Leningradskaya str., Pesochny, St. Petersburg 197758, e-mail: asatur15@mail.ru;
[2] Institute of Control Sciences RAS, 65 Profsouznaya str., Moscow 117997, e-mail: mikhalsk@rssi.ru;
[3] N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, 68 Leningradskaya str., Pesochny, St. Petersburg 197758, e-mail: aging@mail.ru

Data on lifespan and some reasons of musicians' death of the XX century are presented in this article. The mean age of death (MAD) in male musicians (*n*=20 218) was 67,8 years, whereas the MAD in female ones was 71,5 years. «Classic» musicians both men and women lived longer than jazz, pop and variety music performing musicians (6,3 and 9,7 years longer respectively) and much longer then rock musicians (21,7 and 30,7 years longer, respectively). Among classic music interpreters, 10,8% of men and 21,5% of women survived into their 90 years' old; among jazz and variety musicians — 5,4 and 9,2% respectively; rock musicians barely survived to 90 years of age (0,4% in men and women). Male musicians of classic genre (9 100 persons) lived for 3,5 less then female musicians of the same genre (2 339). The MAD of jazz and variety musicians wasn't difference in men (7 974) and women (1 770) and the MAD in female rock musicians (254) was 5,5 years less as compared with male (3 144). Frequency of suicides, deaths by misadventure, murders and malignant tumors was maximum in rock musicians and minimally in «classics». All these events related to the music genre. The data of musicians of the XX century who have reached the age of 101 years old are presented in this article as well.

Key words: *musicians, mean age of death, long-lining persons, suicide, violent death, cancer*

© В. А. Девяткин, Н. А. Муралева, Н. Г. Колосова, 2019
Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 901–907
УДК 575.113:616.127:612.67:599.323.4

В. А. Девяткин[1, 2], *Н. А. Муралева*[1, 2], *Н. Г. Колосова*[1, 2]

ВЫЯВЛЕНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В АССОЦИИРОВАННЫХ С МИТОХОНДРИЯМИ ГЕНАХ, СПОСОБНЫХ ВЛИЯТЬ НА РАЗВИТИЕ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У ПРЕЖДЕВРЕМЕННО СТАРЕЮЩИХ КРЫС *OXYS**, **

[1] Федеральный исследовательский центр, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10; [2] Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1, e-mail: kolosova@bionet.nsc.ru

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГК) — гетерогенное заболевание миокарда с широким спектром клинических проявлений, риск развития которого увеличивается с возрастом на фоне характерных для старения изменений миокарда. Очевиден вклад в развитие ГК генетической составляющей, однако этиология и патогенез этого заболевания в 50% случаев остаются неясными. Цель исследования — на основании результатов *RNA-Seq* провести поиск однонуклеотидных полиморфизмов в генах, ассоциированных с митохондриями, которые могут вносить вклад в развитие гипертрофии миокарда у преждевременно стареющих крыс *OXYS*. Выявлены полиморфизмы с возможным негативным влиянием на функцию белкового продукта в генах *Fbxl4* и *Slc25a32*, ассоциированных с митохондриями, мутации в которых с ГК ранее не связывали. В пользу того, что выявленные полиморфизмы могут вносить вклад в развитие ГК, свидетельствуют изменения экспрессии этих генов в миокарде крыс *OXYS* на разных стадиях развития патологических изменений. Таким образом, полиморфизмы в генах *Fbxl4* и *Slc25a32*, а также сами гены можно рассматривать как перспективные молекулярные мишени при исследовании вклада дисфункции митохондрий в развитие гипертрофии миокарда.

***Ключевые слова:** старение, гипертрофия миокарда, однонуклеотидные полиморфизмы, Fbxl4, Slc25a32, крысы OXYS*

По данным ВОЗ, одной из основных причин преждевременной смерти жителей нашей планеты остаются заболевания сердечно-сосудистой системы, в том числе гипертрофическая кардиомиопатия (ГК). Она является гетерогенным заболеванием миокарда с широким спектром клинических проявлений и морфологических особенностей, риск развития которого увеличивается с возрастом на фоне характерных для старения изменений миокарда — гипертрофии ЛЖ, сопровождающейся снижением диастолической функции, как правило, на фоне артериальной гипертензии [6]. Очевиден вклад в развитие ГК генетической составляющей [15] — идентифицировано более 1 500 ассоциированных с развитием ГК мутаций [34], среди них есть такие, которые встречаются только в одной или нескольких семьях [24]. В 50% случаев ГК наследуется по аутосомно-доминантному типу, хотя некоторые случаи объясняются мутациями *de novo*, реже — аутосомно-рецессивным наследованием. Носители мутаций имеют высокий риск развития заболевания, но пенетрантность их неполная и у многих носителей мутаций заболевание проявляется только в пожилом возрасте или не проявляется вообще [22].

Высокие энергетические затраты сердечной ткани определяют зависимость её стабильной работы от функций митохондрий. Закономерно, что гипертрофия миокарда встречается более чем у 50% людей с митохондриальной кардиомиопатией [26], при этом чаще всего развитие последней вызывают мутации в генах, кодирующих белки комплекса дыхательной цепи. Как показали недавние исследования, к развитию ГК может приводить нарушение динамики митохондрий — их деления и/или слияния [8], а также регуляции митофагии, нацеленной на удаление митохондрий со структурно-функциональными нарушениями [30]. Несмотря на очевидный прогресс в исследованиях механизмов развития ГК, в 50% случаев этиология

* Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0259-2019-0002 и гранта РФФИ № 18-015-0336.
** Статья печатается в авторской редакции.

и патогенез этого заболевания остаются неясными, что затрудняет своевременное выявление заболевания и разработку патогенетически обоснованных способов его профилактики и лечения.

Продуктивный подход к выяснению механизмов развития различных форм кардиомиопатии — исследования на биологических моделях, поскольку гетерогенность заболевания и неполная пенетрантность затрудняют выявление редких генетических вариантов у людей, а генетическая однородность и стандартные условия содержания животных повышают воспроизводимость результатов и снижают влияние внешних факторов. В настоящей работе мы исследовали генетические предпосылки развития ГК у крыс *OXYS*, у которых это заболевание становится одним из проявлений преждевременного старения наряду с ранним развитием признаков болезни Альцгеймера и ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации у людей [1, 29]. По данным ЭКГ, незначительные функциональные изменения в миокарде крыс *OXYS* развиваются уже к 3-му месяцу на фоне повышенного АД и прогрессируют к 12-му месяцу на фоне характерных для старых животных изменений миокарда: гипертрофии ЛЖ и увеличения размеров кардиомиоцитов, интерстициального отека и разрастания соединительной ткани вокруг сосудов [20]. Развитие кардиомиопатии, как и нейродегенеративных изменений в мозге, происходит у крыс *OXYS* на фоне структурно-функциональных нарушений митохондрий, которые выявляются уже в 3 мес и аналогичны тем, что регистрируют у двухгодовалых крыс *Wistar* [9, 31, 32]. Проведенное ранее сравнение митохондриальных геномов у крыс *OXYS* и *Wistar* выявило только синонимичные мутации [3], при этом было показано, что завершение созревания мозга крыс *OXYS* в постнатальный период происходит на фоне усиленного накопления протяженных делеций митохондриальной ДНК [2]. Развитие ГК, как и других проявлений преждевременного старения, может быть связано с однонуклеотидными полиморфизмами в ядерном геноме крыс *OXYS*. Цель исследования — выявление однонуклеотидных полиморфизмов в генах, ассоциированных с митохондриями, которые могут вносить вклад в развитие ГК у крыс *OXYS*, и сравнение изменений уровня экспрессии этих генов в миокарде с возрастом у крыс *OXYS* и *Wistar* (контрольная группа).

Материалы и методы

Работа выполнена на самцах крыс *OXYS* и крыс *Wistar* (контрольная группа) на базе Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН. Животных содержали при естественном освещении группами по 6 особей в клетках размером 57×36×20 см при температуре 22±2 °С в условиях фиксированного режима освещения (12 ч свет /12 ч темнота) при свободном доступе к воде и пище — стандартному гранулированному корму для лабораторных животных («Чара», ЗАО «Ассортимент-Агро», Россия). Для забора образцов миокарда, крыс ингаляционно анестезировали CO_2 и декапитировали. Протокол эксперимента на животных одобрен биоэтическим комитетом Института цитологии и генетики.

Определение полиморфизмов проводили на основе анализа результатов исследования транскриптома — данных *RNA-seq* префронтальной коры (20 дней, 5 и 18 мес), гиппокампа (20 дней, 5 и 18 мес) и сетчатки (20 дней, 3 и 18 мес), n=3, крыс *OXYS* и *Wistar* (контрольная группа), полученных ранее [18, 27]. Образцы анализировали как биологические повторы для каждой группы крыс.

Оценку качества картированных данных проводили с использованием программного обеспечения FastQC. Определение полиморфизмов в транскриптомных данных у крыс *OXYS* и *Wistar* проводили относительно референсной последовательности генома крыс линии *BN/NhsdMcwi* в сборке версии RGSC 6.0 (выпуск Ensemble 75) в программном обеспечении TopHat v2.0.4. Качество отображаемых данных оценивали с использованием модуля CollectRnaSeqMetrics в программном комплексе Picard (https://www.Broadinstitute.github.io/picard).

Исходный набор полиморфизмов определяли с помощью пакета программ SAMtools (v. 0.1.17). Среди полученных полиморфных вариантов в тканях крыс *OXYS* были выбраны только те, генотип которых установлен хотя бы для трех животных в каждой из экспериментальных групп, при этом покрытие (DP) было ⩾10 по крайней мере для одного животного. Список полиморфизмов у крыс *OXYS* сопоставили со списком полиморфизмов у контрольных крыс *Wistar*. Мутации, которые были обнаружены по меньшей мере у 3 крыс *Wistar* в каждой ткани, не считали специфичными для крыс *OXYS*.

Влияние замены аминокислоты на функцию белка было предсказано с использованием web-инструмента Variant Effect Predictor (https://www.ensembl.org/Multi/Tools/VEP); для каждого варианта оценивали тип замены, результат с использованием алгоритма *SIFT* и прогноз. Оценки *SIFT* 0–0,05 классифицировали как «вредные», 0,05–1,00 — как «толерантные».

Список ассоциированных с митохондриями генов получен согласно базам Gene Ontology (http://geneontology.org/), NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) и KEGG (https://www.genome.jp/kegg/) и включал все подходящие позиции, без фильтрации по источнику информации об ассоциации (доказанные экспериментальные данные, требующие проверки, предсказанные).

Структуры белков с мутациями получены с использованием сервиса I-TASSER (http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER) и визуализированы в программе Deep View Swiss-PdbViewer (http://www.genebee.msu.su/spdbv/mainpage.htm).

Уровень мРНК в миокарде крыс *Wistar* и *OXYS* в возрасте 20 дней (до развития патологических изменений миокарда), 4 и 20 мес (периоды манифестации и прогрессирования ГК) определяли методом ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией (n=5 для каждой группы). РНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции с последующим удалением геномной ДНК обработкой ДНКазойI. Концентрацию и качество РНК оценивали на спектрофотометре «NanoDrop 2000» («ThermoScientific», США). Синтез одноцепочечной кДНК на РНК-матрице проводили с помощью фермента *M-MLV Reverse Transcriptase*. Нормирование проводили на ген *Rpl30* (белок 30 большой субъединицы рибосомы). Праймеры для ПЦР подбирали с помощью ресурса Primer-BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/). В работе использовали праймеры: *Rpl30 5'-CAAAGCTGGACAGTTGTTGG-3'*, *Rpl30 5'-ATGGTGGCTGCAAAGAAGAC-3'*, *Fbxl4-F 5'-CACTACGGCAGCGAGAACAG-3'*, *Fbxl4 5'-CTCCCATCTTACTTCTGCTGGAGG-3'*, *Slc25a32 5'-CAAAGACGTGGAGGAAAGAAGG-3'*, *Slc25a32 5'-GCCATGTTCCACACATACGG-3'*.

Статистические расчеты результатов ПЦР-анализа производили с помощью программного пакета Statistica 8.1 («Statsoft», США). Использовали факторный дисперсионный анализ (ANOVA) с post-hoc сравнением групповых средних (Newman—Keultest). Как независимые факторы рассматривали генотип (*Wistar, OXYS*) и возраст животных. Данные представлены как $M \pm S$. *E. M.* Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Согласно последним данным базы MitoCarta2.0, необходимые для поддержания нормального функционирования митохондрий белки кодируются 1 158 генами. Сравнение с референсным геномом крыс *BN/NHsdMcwi* выявило 6 354 полиморфизма в гомозиготном состоянии в 2 466 генах крыс *OXYS*, не встречающихся в геноме контрольных крыс *Wistar*. Из них 392 полиморфизма находятся в последовательностях 155 генов, ассоциированных с митохондриями. Как показал анализ с использованием алгоритма SIFT, мутации в генах *Fbxl4* и *Slc25a32* приводят к заменам в консервативных участках соответствующих белков. На *рис. 1* представлено положение выявленных полиморфизмов в третичной структуре белковых продуктов генов *Fbxl4* и *Slc25a32*. Мутации не затрагивают активных центров, трансмембранных и сигнальных доменов, но, тем не менее, могут оказывать существенное влияние на структуру и/или функцию белка у крыс *OXYS*.

Как показано в *таблице*, у крыс *OXYS* в гене *Fbxl4* гистидин в 141-й позиции заменен на нейтральный тирозин. Продукт гена *Fbxl4* участвует в регуляции митохондриального гомеостаза. Известно, что девять мутаций в гене *Fbxl4* приводят к развитию тяжелой митохондриальной энцефалопатии с нарушением обслуживания митохондриальной ДНК. В клеточных культурах мышц и фибробластов людей с мутациями в гене *FBXL4* наблюдают прогрессирующие нарушения функций дыхательной цепи митохондрий на фоне снижения скорости потребления кислорода и гиперфрагментации митохондриальной сети [5, 11, 14]. Мутация *C584R* в гене *FBXL4* у людей приводит к развитию энцефаломиопатии, тяжелому лактоацидозу, задержке развития нервной системы и ГК [25]. Другие патогенные варианты этого гена вызывают микроцефалию, рецидивирующие инфекции, аномалии белого вещества и атрофию головного мозга [10].

У крыс *OXYS* мутация в гене *Fbxl4* находится в консервативном районе и потенциально способна вносить вклад в развитие ГК, выраженные клинические проявления которой формируются у этих

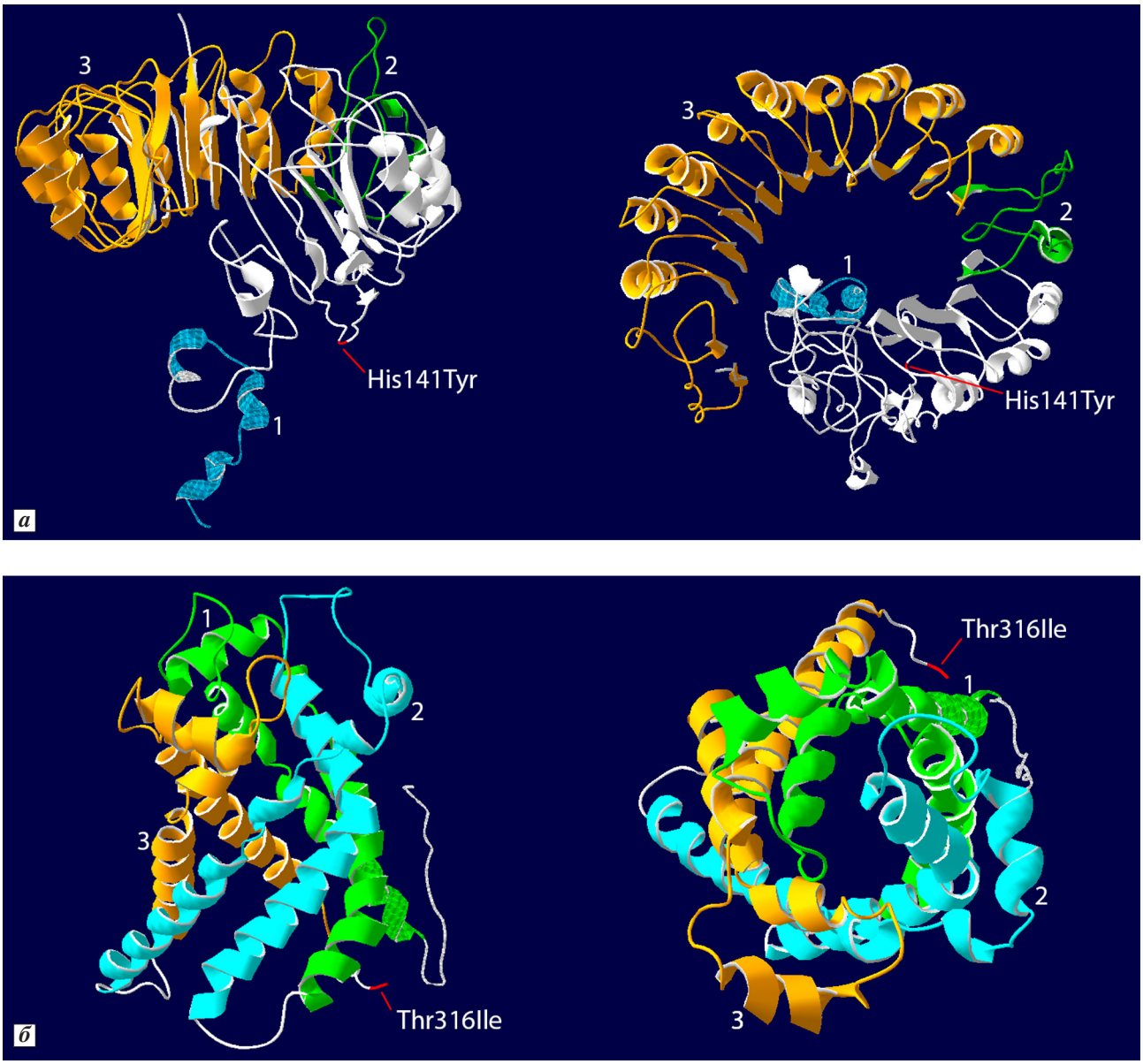


Рис. 1. Третичная структура белка Fbxl4 (а):
1 — аминокислотные позиции 277–325, F-box domain IPR001810; 2 — аминокислотные позиции 326–618, Leucine-rich repeat domain superfamily IPR032675; 3 — аминокислотные позиции 1–23, сигнальный пептид; His141Tyr — целевая мутация: б — третичная структура белка Slc25a32: 1 — аминокислотные позиции 20–109, Mitochondrial substrate/solute carrier IPR018108; 2 — аминокислотные позиции 118–212, Mitochondrial substrate/solute carrier IPR018108; 3 — аминокислотные позиции 222–308, Mitochondrial substrate/solute carrier IPR018108; Thr316Ile — целевая мутация

Гены, содержащие в кодирующей области нуклеотидные замены, способные оказывать значительное влияние на структуру и/или функцию белка у крыс *OXYS*

Символ гена	Название гена	Хромосома/позиция	*ID*	Замена	
				нуклеотид	аминокислота
Fbxl4	*F-box* и лейцин-богатый белок 4	5/36568114	rs198620411	*c.421C>T*	*His141Tyr*
Slc25a32	32-й член семейства митохондриальных переносчиков	7/77988396	–	*c.947G>T*	*Thr316Ile*

животных к 12 мес [20]. В настоящей работе мы провели сравнение изменений с возрастом транскрипционной активности гена *Fbxl4* в миокарде у крыс *OXYS* и *Wistar*. Как показано на *рис. 2*, уровень мРНК этого гена с возрастом значимо не меняется у крыс *Wistar* и увеличивается в мио-

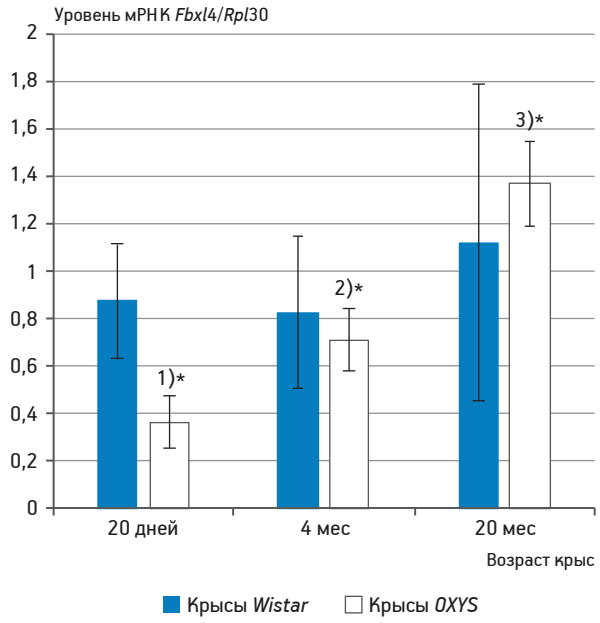


Рис. 2. Уровень мРНК гена Fbxl4 в миокарде у крыс OXYS и Wistar разного возраста.

Данные получены методом ПЦР в режиме реального времени; достоверные 1) межлинейные различия (p<0,01); 2)* (p<0,01); 3)* p<0,001 — изменения с возрастом. Данные представлены как M±S. E. M., n=5*

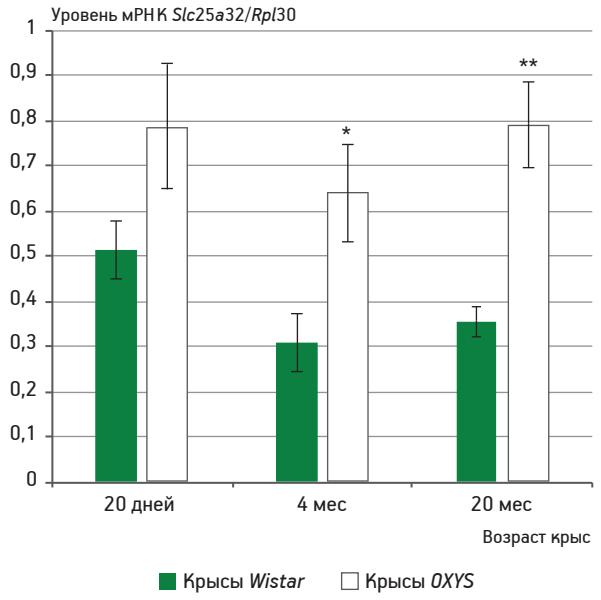


Рис. 3. Уровень мРНК гена Slc25a32 в миокарде у крыс OXYS и Wistar разного возраста.

*Данные получены методом ПЦР в режиме реального времени; * p<0,05, ** p<0,01 — различия достоверны по сравнению с крысами Wistar. Данные представлены как M±S. E. M., n=5*

карде у крыс *OXYS*. При этом в возрасте 20 дней этот показатель у крыс *OXYS* почти втрое ниже, чем у крыс *Wistar* ($p<0,006$), а к 4 мес повышается и межлинейные различия нивелируются (*рис. 3*).

Снижение уровня мРНК гена *Fbxl4* в миокарде у 20-дневных крыс *OXYS* косвенно указывает на возможную вовлеченность мутации в этом гене в развитие митохондриальной дисфункции, признаки которой выявлены нами при исследовании структурно-функциональных параметров митохондрий в мозге крыс *OXYS* этого возраста [31, 32]. Одним из наиболее ранних проявлений мутации в гене *Fbxl4* могут быть выявленные у крыс *OXYS* признаки задержки завершения созревания мозга в ранний постнатальный период [23], которая, как мы предполагаем, может быть связана с дисфункцией митохондрий. В этой связи принципиально важно, что патологические изменения, вызванные мутациями в гене *FBXL4*, выявлены разными исследовательскими группами не только в миокарде, но и в мозге, что делает ген перспективным для дальнейших исследований в качестве гена-кандидата не только ГК, но и других ассоциированных с митохондриальной дисфункцией заболеваний.

Существенное влияние на развитие ГК, как и других проявлений преждевременного старения у крыс *OXYS*, способен вносить выявленный нами полиморфизм в последовательности гена *Slc25a32*. Белок, кодируемый этим геном, транспортирует фолат через внутреннюю мембрану митохондрий. Фолаты относят к семейству водорастворимых витаминов, которые функционируют как кофакторы в ряде важнейших метаболических реакций, участвуют в синтезе предшественников ДНК и РНК, метаболизме аминокислот, а также в реакции метилирования. Нокаут гена *Slc25a32* приводит к дефектам нервной трубки у мышей, которые в большинстве случаев могут быть компенсированы введением экзогенного формиата [16]. Гомозиготная мутация (*c.-264_31delinsCTCACAAATGCTCA*) в этом гене вызывает даже более тяжелые, чем полностью нерабочий белок, нервно-мышечные проявления с ранней атаксией, миоклонией, дизартрией, мышечной слабостью и непереносимостью физических упражнений [13]. Добавление фолиевой кислоты предотвращало дефекты нервной трубки и снижало риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта [4], а также смягчало когнитивные нарушения при болезни Альцгеймера [7]. Мутации в гене *SLC25A32* также рассматривают как фактор риска снижения уровня фолата и повышения хрупкости костей и как предпосылку к нарушению метаболизма витамина B_{12} у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

[12, 33]. Ранее было показано, что у крыс *OXYS* нарушена минерализации костной ткани с последующим развитием остеопороза и повышением хрупкости трубчатых костей [17, 21].

В настоящем исследовании мы не выявили различий в уровне мРНК гена *Slc25a32* в миокарде у 20-дневных крыс *OXYS* и *Wistar*, но в возрасте 4 и 20 мес — в период развития и прогрессии признаков ГК — его экспрессия у крыс *OXYS* была повышена (см. рис. 3.). Ранее увеличение транскрипционной активности гена *Slc25a32* было выявлено в сетчатке в 3 мес, гиппокампе и префронтальной коре у крыс *OXYS* в 5 мес — в период развития выраженных нейродегенеративных изменений [18, 27, 28]. Известно, что экспрессия гена *Slc25a32* находится под контролем кластера транскрипционных факторов, что делает её менее чувствительной к мутациям в отдельных регуляторных элементах [19]. Возможно, повышение уровня экспрессии гена *Slc25a32* во всех исследованных тканях у крыс *OXYS* может быть компенсаторным ответом на наличие в данном гене мутации.

Заключение

Выполненный в настоящей работе методом *RNA-Seq* поиск специфических для крыс *OXYS* полиморфизмов в генах, ассоциированных с митохондриями, выявил полиморфизмы с возможным негативным влиянием замены аминокислоты на структуру и/или функцию белкового продукта в последовательностях генов *Fbxl4* и *Slc25a32*. В пользу того, что эти полиморфизмы могут вносить вклад в развитие ГК, свидетельствуют изменения экспрессии этих генов в миокарде у крыс *OXYS* на разных стадиях развития патологических изменений. Выявленные полиморфизмы в генах *Fbxl4* и *Slc25a32* ранее с гипертрофией миокарда не ассоциировали. Очевидно, что позиции выявленных у крыс *OXYS* мутаций нельзя напрямую соотносить с гомологичными позициями генома человека. Тем не менее, включение содержащих такие гомологичные позиции регионов в анализы GWAS или индивидуального генотипирования повысит чувствительность своевременного предсказания предрасположенности человека к ГК. Таким образом, полиморфизмы в генах *Fbxl4* и *Slc25a32*, а также сами гены можно рассматривать как перспективные молекулярные мишени при исследовании вклада дисфункции митохондрий в развитие гипертрофии миокарда.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Колосова Н.Г., Стефанова Н.А., Корболина Е.Е.* Крысы OXYS — генетическая модель преждевременного старения и связанных с ним заболеваний // Успехи геронтол. 2014. Т. 27. №. 2. С. 336–340.

2. *Лощенова П.С., Синицына О.И., Федосеева Л.А. и др.* Накопление делеций в ДНК митохондрий гиппокампа преждевременно стареющих крыс OXYS и влияние на него антиоксиданта SkQ1 // Биохимия (Москва). 2015. Т. 80. Вып. 5. С. 707–715.

3. *Максютов Р.А., Гаврилова Е.В., Непомнящих Т.С. и др.* Сравнительный анализ полных нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК крыс линий Wistar и OXYS питомника лабораторных животных ИЦИГ СО РАН // Вавилов. журн. генетики и селекции. 2014. Т. 18. № 3. С. 437–445.

4. *Bailey L.B., Rampersaud G.C., Kauwell G.P.* Folic acid supplements and fortification affect the risk for neural tube defects, vascular disease and cancer: evolving science // J. Nutr. 2003. Vol. 133. № 6. P. 1961S–1968S.

5. *Bonnen P.E., Yarham J.W., Besse A. et al.* Mutations in FBXL4 cause mitochondrial encephalopathy and a disorder of mitochondrial DNA maintenance // Amer. J. hum. Genet. 2013. Vol. 93. № 3. P. 471–481. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.07.017.

6. *Boyle A.J., Shih H., Hwang J. et al.* Cardiomyopathy of aging in the mammalian heart is characterized by myocardial hypertrophy, fibrosis and apredisposition towards cardiomyocyte apoptosis and autophagy // Exp. Geront. 2011. Vol. 46. № 7. P. 549–559. doi: 10.1016/j.exger.2011.02.010

7. *Chen H., Liu S., Ji L.U. et al.* Folic acid supplementation mitigates alzheimer's disease by reducing inflammation: a randomized controlled trial // Mediators Inflamm. 2016. 5912146. doi: 10.1155/2016/5912146

8. *Dorn G.Ii.* Mitochondrial fission/fusion and cardiomyopathy // Curr. Opin. Genet. Dev. 2016. Vol. 38. P. 38–44. doi: 10.1016/j.gde.2016.03.001

9. *El'darov Ch.M., Vays V.B., Vangeli I.M. et al.* Morphometric Examination of Mitochondrial Ultrastructure in Aging Cardiomyocytes // Biochemistry (Mosc). 2015. Vol. 80. № 5. P. 604–609. doi: 10.1134/S0006297915050132

10. *El-Hattab A.W., Dai H., Almannai M. et al.* Molecular and clinical spectra of FBXL4 deficiency // Hum. Mutat. 2017. Vol. 38. № 12. P. 1649–1659. doi:10.1002/humu.23341

11. *Gai X., Ghezzi D., Johnson M. A. et al.* Mutations in FBXL4, encoding a mitochondrial protein, cause early-onset mitochondrial encephalomyopathy // Amer. J. hum. Genet. 2013. Vol. 93. № 3. P. 482–495. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.07.016

12. *Gutiérrez-Aguilar M., Baines C. P.* Physiological and pathological roles of mitochondrial SLC25 carriers // Biochem. J. 2013. Vol. 454. № 3. P. 371–386. doi: 10.1042/BJ20121753

13. *Hellebrekers D.M.E.I., Sallevelt S.C.E.H., Theunissen T.E.J. et al.* Novel SLC25A32 mutation in a patient with a severe neuromuscular phenotype // Europ. J. hum. Genet. 2017. Vol. 25. № 7. P. 886–888. doi: 10.1038/ejhg.2017.62

14. *Huemer M., Karall D., Schossig A. et al.* Clinical, morphological, biochemical, imaging and outcome parameters in 21 individuals with mitochondrial maintenance defect related to FBXL4 mutations // J. Inherit. Metab. Dis. 2015. Vol. 38. № 5. P. 905–914. doi: 10.1007/s10545–015–9836–6

15. *Jacoby D.L., DePasquale E.C., McKenna W.J.* Hypertrophic cardiomyopathy: diagnosis, risk stratification and treatment // CMAJ. 2013. Vol. 185. № 2. P. 127–134. doi:10.1503/cmaj.120138

16. *Kim J., Lei Y., Guo J. et al.* Formate rescues neural tube defects caused by mutations in Slc25a32 // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2018. Vol. 115. № 18. P. 4690–4695. doi: 10.1073/pnas.1800138115

17. *Kolosova N G., Kutorgin G.D., Safina A.F.* Bone mineralization in senescence-accelerated OXYS rats // Bull. Exp. Biol. Med. 2002. Vol. 133. № 2. P. 171–174.

18. Kozhevnikova O.S., Korbolina E.E., Ershov N.I., Kolosova N.G. Rat retinal transcriptome: effects of aging and AMD-like retinopathy // Cell Cycle. 2013. Vol. 12. № 11. P. 1745–1761. doi: 10.4161/cc.24825

19. Lu R., Rogan P.K. Transcription factor binding site clusters identify target genes with similar tissue-wide expression and buffer against mutations. Version 2 // F1000Res. 2018. Vol. 7. P. 1933. doi:10.12688/f1000research.17363.2

20. Muraleva N.A., Devyatkin V.A., Kolosova N.G. Phosphorylation of αB-crystallin in the myocardium: Analysis of relations with aging and cardiomyopathy // Exp. Geront. 2017. Vol. 95. P. 26–33. doi: 10.1016/j.exger.2017.05.009

21. Muraleva N.A., Ofitserov E.N., Tikhonov V.P., Kolosova N.G. Efficacy of glucosamine alendronate alone & in combination with dihydroquercetin for treatment of osteoporosis in animal model // Indian. J. Med. Res. 2012. Vol. 135. P. 221–227.

22. Roma-Rodrigues C., Fernandes A.R. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy: advances and pitfalls in molecular diagnosis and therapy // Appl. clin. Genet. 2014. Vol. 7. P. 195–208. doi: 10.2147/TACG.S49126

23. Rudnitskaya E.A., Kozlova T.A., Burnyasheva A.O. et al. Alterations of hippocampal neurogenesis during development of Alzheimer's disease-like pathology in OXYS rats // Exp. Geront. 2019. Vol. 115. P. 32–45. doi: 10.1016/j.exger.2018.11.008

24. Sabater-Molina M., Pérez-Sánchez I., Hernández Del Rincón J.P. et al. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy: A review of current state // Clin. Genet. 2018. Vol. 93. № 1. P. 3–14. doi: 10.1111/cge.13027

25. Sabouny R., Wong R., Lee-Glover L. et al. Characterization of the C584R variant in the mtDNA depletion syndrome gene FBXL4, reveals a novel role for FBXL4 as a regulator of mitochondrial fusion // Biochim. Biophys. Acta molec. Basis Dis. 2019. Vol. 1865. № 11. P. 165536. doi: 10.1016/j.bbadis.2019.165536

26. Scaglia F., Towbin J.A., Craigen W.J. et al. Clinical spectrum, morbidity, and mortality in 113 pediatric patients with mitochondrial disease // Pediatrics. 2004. Vol. 114. № 4. P. 925–931.

27. Stefanova N.A., Ershov N.I., Maksimova K.Y. et al. The Rat Prefrontal-Cortex Transcriptome: Effects of Aging and Sporadic Alzheimer's Disease-Like Pathology // J. Geront. A Biol. Sci. Med. Sci. 2019. Vol. 74. № 1. P. 33–43. doi: 10.1093/gerona/gly198

28. Stefanova N.A., Maksimova K.Y., Rudnitskaya E.A. et al. Association of cerebrovascular dysfunction with the development of Alzheimer's disease-like pathology in OXYS rats // BMC Genom. 2018. Vol. 19. № 3. P. 75. doi: 10.1186/s12864-018-4480-9

29. Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P., Kolosova N.G. Alzheimer's disease-like pathology in senescence-accelerated OXYS rats can be partially retarded with mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 // J. Alzheimers Dis. 2014. Vol. 38. № 3. P. 681–694. doi: 10.3233/JAD-131034

30. Tong M., Sadoshima J. Mitochondrial autophagy in cardiomyopathy // Curr. Opin. Genet. Dev. 2016. Vol. 38. P. 8–15. doi: 10.1016/j.gde.2016.02.006

31. Tyumentsev M.A., Stefanova N.A., Kiseleva E.V., Kolosova N.G. Mitochondria with Morphology Characteristic for Alzheimer's Disease Patients Are Found in the Brain of OXYS Rats // Biochemistry (Mosc). 2018. Vol. 83. № 9. P. 1083–1088. doi:10.1134/S0006297918090109

32. Tyumentsev M.A., Stefanova N.A., Muraleva N.A. et al. Mitochondrial Dysfunction as a Predictor and Driver of Alzheimer's Disease-Like Pathology in OXYS Rats // J. Alzheimers Dis. 2018. Vol. 63. № 3. P. 1075–1088. doi: 10.3233/JAD-180065

33. Urano T., Shiraki M., Saito M. et al. Polymorphism of SLC25A32, the folate transporter gene, is associated with plasma folate levels and bone fractures in Japanese postmenopausal women // Geriat. Geront. Int. 2014. Vol. 14. № 4. P. 942–946. doi: 10.1111/ggi.12201

34. Viswanathan S.K., Sanders H.K., McNamara J.W. et al. Hypertrophic cardiomyopathy clinical phenotype is independent of gene mutation and mutation dosage // PLoS One. 2017. Vol. 12. № 11. P. e0187948. doi:10.1371/journal.pone.0187948

Поступила в редакцию 12.11.2019
После доработки 12.11.2019
Принята к публикации 18.11.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 901–907

V. A. Devyatkin[1, 2], *N. A. Muraleva*[1, 2], *N. G. Kolosova*[1, 2]

ASSESSMENT OF MITOCHONDRIA-ASSOCIATED GENES FOR SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS LINKED TO THE DEVELOPMENT OF HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY IN THE SENESCENCE-ACCELERATED *OXYS* RATS

[1] Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of RAS,
10 pr. Lavrentyeva, Novosibirsk 630090; [2] Novosibirsk State University, 1 Pirogova str., Novosibirsk 630090,
e-mail: kolosova@bionet.nsc.ru

Hypertrophic cardiomyopathy (HC) is a heterogeneous myocardial disease with a wide range of clinical manifestations and risk of development increasing with age along with myocardial changes characteristic of aging. The contribution of genetic component to the development of HC is obvious, however, the etiology and pathogenesis of this disease remains unclear in 50% of cases. The aim of the present study was to search for single nucleotide polymorphisms (SNPs) in mitochondria-associated genes that can contribute to the development of myocardial hypertrophy using *RNA-Seq* data from senescence-accelerated *OXYS* rats. Here we revealed SNPs with a possible negative effect on the function of the protein product in mitochondria-associated genes *Fbxl*4 and *Slc*25*a*32, mutations in which were not previously associated with HC. Alterations in the expression of these genes in the myocardium of *OXYS* rats at different stages of the development of pathological changes indicate that the revealed SNPs can contribute to the development of HC. Thus, SNPs in the *Fbxl*4 and *Slc*25*a*32 genes, as well as the genes themselves, can be considered promising molecular targets in the studies of the contribution of mitochondrial dysfunction to the development of myocardial hypertrophy.

Key words: *aging, myocardial hypertrophy, single-nucleotide polymorphisms, Fbxl4, Slc25a32, OXYS rats*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 611.778.018:612.67(048)

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 908–914

Е. О. Гутоп [1], А. С. Дятлова [1], Н. С. Линькова [1, 2], О. А. Орлова [1], С. В. Трофимова [1, 2], В. Х. Хавинсон [1, 3, 4]

СТАРЕНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

[1] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, e-mail: miayy@yandex.ru; [2] Академия постдипломного образования, 125371, Москва, Волоколамское шоссе, 91; [3] Институт физиологии им. И. П. Павлова, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6; [4] Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

Геронтокосметология является быстро развивающейся областью знаний, имеющей большое практическое значение. При этом большинство информации о старении кожи и геропротекторных средствах для ее восстановления не имеет научного обоснования. В связи с этим понимание фундаментальных механизмов старения кожи становится актуальной задачей молекулярной геронтологии. Фибробласты кожи являются полифункциональной популяцией клеток, синтезирующих ряд биологически активных веществ и участвующих в поддержании гомеостаза внутриклеточного матрикса, гидратации кожи, реализации ее эндокринной и иммунной функций. В обзоре описаны генетические (накопление ошибок в ядерной и митохондриальной ДНК) и эпигенетические факторы старения фибробластов кожи. Приведена роль молекул *AP*-1, *NF-κB*, *c-jun*, *CCN*1, *TGF*-β, *TNF*-α, *MMP*-1, *MMP*-3, *MMP*-8, *MMP*-9 и реакции гликирования в старении фибробластов кожи. Представлены данные о связи снижения способности фибробластов кожи к миграции и синтеза в них белков семейства паксиллинов и аквапорина-3 (*AQP*3) при старении. Показана роль гормональной регуляции в старении фибробластов кожи и геропротекторное действие мелатонина в отношении этой субпопуляции клеток. Приведенные в обзоре молекулярно-клеточные аспекты старения фибробластов кожи могут быть учтены при научном обосновании применения косметологических средств для замедления темпов старения кожи.

Ключевые слова: фибробласты кожи, старение, сигнальные молекулы, мелатонин

Старение кожи представляет собой сложный биологический процесс, в который вовлечены генетические и эпигенетические факторы. Возрастные изменения кожи начинаются после 30 лет и характеризуются снижением в фибробластах синтеза коллагена и эластина. В старческом возрасте синтез коллагена в коже снижается на 75 % по сравнению с лицами молодого возраста [4]. Помимо снижения синтеза коллагена, инволюция кожи характеризуется дисфункцией защитного барьера. Заживление повреждений на коже людей среднего возраста происходит в 4 раза медленнее, чем в молодом возрасте [6]. Кроме того, возрастные изменения кожи имеют выраженные внешние проявления и способствуют возникновению неблагоприятного эстетического восприятия, что особенно важно для людей, работа которых связана с активной социальной жизнью. Таким образом, возрастные изменения кожи и методы их коррекции представляют собой актуальную проблему современной геронтологии, дерматологии и косметологии.

В настоящее время существует большое количество косметологических методов, имеющих антивозрастную направленность [18, 26]. По запросу «антивозрастные средства в косметологии» поисковая система Google находит порядка 3 млн результатов, в то же время англоязычная текстовая база данных медицинских и биологических публикаций PubMed по запросу «anti-aging» за последние 10 лет находит около 2,5 тыс. статей. Таким образом, большинство предлагаемых широкой аудитории косметических средств и методик зачастую не имеют научного обоснования.

Как уже было сказано выше, процесс старения подразумевает под собой две взаимодополняющие составляющие — генетическую и эпигенетическую. В контексте геронтокосметологии генетическое старение кожи называют также хронологическим, или естественным. Эпигенетическое старение кожи обусловлено факторами окружающей среды, образом жизни и питания, экологией и т. д. Наибольшее влия-

ние на кожу в течение жизни человека оказывает ультрафиолетовое (УФ) излучение, что зачастую приводит к преждевременному старению (фотостарению). В обзоре рассмотрены основные механизмы естественного и преждевременного старения фибробластов кожи.

Фибробласты кожи локализованы на границе между эпидермисом и дермой и взаимодействуют с клетками эпидермиса — кератиноцитами. К веществам, синтезируемым фибробластами, относят коллагены, эластин, гликопротеины, гликозаминогликаны, модифицирующие матрикс белки, а также цитокины и факторы роста [4]. Разнообразие синтезируемых фибробластами протеинов и гликопротеинов определяет функцию этих клеток, состоящую в продукции, организации, обновлении внутриклеточного матрикса (ВКМ). Фибробласты кожи можно рассматривать как «сторожевые» клетки, реализующие ответ соединительной ткани на инфекцию или повреждение. Синтезируемые фибробластами факторы роста (*VEGFs*, *FGFs*, *TGF*-β1, *HGF/SF*) обеспечивают ангиогенез, индуцируя дифференцировку и миграцию эндотелиальных клеток [39]. Фибробласты кожи участвуют в нейроэндокринной регуляции ее функций. Они синтезируют гормоны (пролактин, гормон роста), биогенные амины (дофаминовый предшественник тирозина), нейропептиды (например, вещество *P*) [9, 42]. Фибробласты кожи экспрессируют рецепторы андрогенов и эстрогенов, посредством которых осуществляется влияние этих гормонов на кожу человека [3, 4].

Показано участие фибробластов в ремоделировании ВКМ. Мигрируя к месту повреждения ткани, они дифференцируются в премиофибробласты, которые продуцируют коллаген и фибронектин и организуют ВКМ, выполняющий структурную функцию. В дальнейшем премиофибробласты под влиянием специфических факторов (*TGF*-β1, *EGF*, *PDGF*, *FGF*2) и механического напряжения дифференцируются в миофибробласты, способствующие сокращению раны, и восстанавливают гомеостаз в поврежденной ткани. Миофибробласты посредством апоптоза элиминируются из места повреждения и замещаются фибробластами, которые инициируют образование коллагенового матрикса [4].

Генетические и эпигенетические факторы старения фибробластов

В настоящий момент имеется множество теорий старения организма в целом, и кожи в частности. Наибольшее распространение получили свободнорадикальная, онтогенетическая и адаптационно-регуляторная теории [12, 15, 17]. Их суть состоит в том, что нарушения процессов адаптации и регуляторных механизмов организма в совокупности с повышением окислительного стресса приводят к реализации программ генетического и эпигенетического старения.

Эпидермис, представляющий собой высокопролиферативную клеточную популяцию, имеет большое количество защитных механизмов, позволяющих этому слою кожи быть достаточно устойчивым к воздействию окружающей среды. Старение эпидермиса, таким образом, отражает процессы генетического старения кожи и организма в целом. Напротив, дермальные фибробласты являются долгоживущей популяцией клеток, способность которых к пролиферации ограничена, что приводит к накоплению в них генетических повреждений. Таким образом, большинство фенотипических изменений, свойственных эпигенетическому старению, связывают с дисфункцией дермальных фибробластов, а сами фибробласты воспринимают как модель для изучения старения на клеточном уровне [40].

Тем не менее, по данным D. Orioli и соавт. [27], процессы хронологического и преждевременного старения в той или иной степени затрагивают как эпидермис, так и дерму. При естественном старении в коже происходит истончение эпидермиса, образование морщин и потеря эластичности ткани. К гистологическим признакам естественного старения кожи относят эпидермальную атрофию, уменьшение числа дермальных фибробластов и коллагеновых волокон, которые при этом становятся рыхлыми, тонкими и дезорганизованными [30].

К внешним факторам старения, прежде всего, относят повреждение кожи УФ-излучением, которое проникает внутрь дермы. УФ-излучение является основным фактором преждевременного старения кожи и состоит из трех компонентов с разной длиной волны: УФ-*A* (400–315 нм), УФ-*B* (315–280 нм), УФ-*C* (280–100 нм) [41]. УФ-*A* проникает глубоко в дерму и соединительную ткань, что приводит к образованию и накопле-

нию аномального эластина и фотостарению кожи. УФ-*B* проникает в эпидермис и дерму, вызывает расширение сосудов, эритему, солнечные ожоги и загар [19]. УФ-*A* и УФ-*B* вызывают повреждение ДНК ядра и митохондрий. Повреждения ядерной ДНК устраняются эксцизионной репарацией, тогда как митохондриальная ДНК (мтДНК) не имеет такой защиты, что приводит к снижению функций митохондрий и последующему апоптозу клеток кожи. Косвенно УФ-*A* вызывает повреждения ДНК и мембран клеток через образование АФК. Оба типа излучения приводят к канцерогенезу [11]. УФ-излучение может также ускорять сокращение теломер и приводить к активации белка *p*53 в ответ на повреждение ДНК [10]. Фотостарение кожи характеризуется неоднородностью толщины эпидермиса, накоплением иммунных клеток и появлением пигментации. Основные изменения происходят в дерме: дезорганизация и частичная деградация коллагеновых волокон приводит к сморщиванию кожи, а разрушение эластиновых волокон и накопление их фрагментов характеризует «солнечный эластоз». Показано, что при более продолжительном УФ-облучении патологические изменения коллагеновых и эластиновых волокон приобретают прогрессирующий характер.

Роль фибробластов в старении кожи

Как было сказано ранее, фибробласты представляют собой долгоживущую популяцию клеток с ограниченным пролиферативным потенциалом, основными функциями которых являются формирование и ремоделирование ВКМ, ангиогенез и иммунная защита. От функциональной активности фибробластов зависит состояние кожи, поэтому уменьшение их числа в дерме с течением жизни лежит в основе возрастных изменений кожи. Возрастную инволюцию кожи считают последствием нарушения функциональной активности фибробластов, характеризующейся снижением синтеза коллагена, эластина, гиалуроновой кислоты и ремоделирования ВКМ. Уменьшение в дерме уровня коллагена обусловлено не только снижением активности фибробластов, но и усилением синтеза коллагеназ при старении кожи [2]. С возрастом соотношение коллагенов 1-го и 3-го типа смещается в сторону увеличения коллагена 1-го типа [8].

При фотостарении снижение содержания коллагена, синтезируемого фибробластами кожи, связано с подавлением экспрессии гена коллагена через транскрипционные факторы *AP*-1 (активирующий протеин-1) и *NF*-к*B* (ядерный фактор-к*B*). Содержание последних повышается в клетках при УФ-излучении, а также с усилением деградации волокон за счет повышения активности матриксных металлопротеиназ (*MMPs*), индуцированного УФ-*A* и УФ-*B* излучением. УФ-излучение приводит к повреждению ДНК, экспрессии белков *c-jun*, *NF*-к*B*, продукции АФК и снижает экспрессию рецептора ретиноевой кислоты (*RA*), *TGF*-β рецептора [25, 43]. АФК вызывают высвобождение провоспалительных цитокинов и факторов роста. *AP*-1 и *NF*-к*B* активируют синтез *MMP*-1, *MMP*-3, *MMP*-8 и *MMP*-9. АФК снижают экспрессию *TGF*-β, под действием которого уменьшается синтез коллагена и увеличивается синтез эластина. АФК вызывает повреждение ДНК кератиноцитов и фибробластов, приводя к их апоптозу и клеточному старению. Эпидермальные кератиноциты больше подвергаются апоптозу, а фибробласты — старению.

В фибробластах кожи при их старении также увеличивается количество цистеин-богатого белка 61 (*CCN*1), стимулирующего избыточную секрецию *MMPs* [29]. Повышенная экспрессия *MMP*1 и снижение экспрессии ее эндогенного ингибитора *TIMP*1 является основной причиной дегенерации ВКМ в коже при ее старении [37]. Увеличение экспрессии белков каскада *AP*-1/*MMP*1 и снижение экспрессии *TIMP*1 обусловлено мутациями мтДНК и дисфункцией митохондрий [23].

Взаимодействие *NF*-к*B* и *p*53 индуцирует апоптоз фибробластов кожи, облученных УФ-*A* светом. По мнению авторов, УФ-*A* приводит к репрессии циклина *D*1, что вызывает остановку клеточного цикла и запрограммированную гибель клеток [24].

С возрастом увеличивается количество реакций гликации — неферментативных реакций между моносахаридами и аминогруппой белков [16]. В коже гликация происходит в основном в дерме из-за обилия в них гликозаминогликанов, коллагена и эластина. Белки, подверженные гликации, теряют свою функцию и образуют патологические виды молекулярных конгломератов, например «сшитый» коллаген. «Сшитый» коллаген не может быть эффективно разрушен и удален протеиназами, что создает предпосылки для его накопления в дерме. Фрагменты «сшитого» коллагена не включаются в формирование новых волокон, он менее эластичен по сравнению с нормальным и плохо связывает воду, что способствует деги-

дратации дермы. Совокупность этих факторов приводит к образованию морщин [1]. Одни авторы считают гликацию проявлением естественного старения, другие говорят о нем как о маркере фотостарения [7, 14]. Конечные продукты гликирования (*AGE* — advanced glycation end product) имеют рецепторы *RAGE*, расположенные на дермальных фибробластах и эпидермальных кератиноцитах. Экспрессия *RAGE* значительно возрастает при длительном воздействии УФ-излучения. Экспрессия *RAGE* индуцируется *AGE* и *TNF*-α. *RAGE* инициируют каскад сигналов, влияющих на клеточный цикл, индуцирующих воспаление и синтез ВКМ. Значительное количество *RAGE* встречается в участках солнечного эластоза. В коже *RAGE* снижает пролиферацию фибробластов и синтез внеклеточного матрикса, индуцирует апоптоз и увеличивает синтез *MMP* [5]. Также была продемонстрирована регуляторная роль *RAGE* в меланогенезе [24].

Признаки старения фибробластов кожи

Нарушения функциональной активности фибробластов могут быть связаны с возникновением повреждений ДНК и накоплением их с возрастом. Фибробласты человека, подвергнутые репликативному или стресс-индуцированному старению *in vitro*, накапливают очаги, которые содержат комплексы ДНК с двунитевыми разрывами [31, 34]. Таким образом, еще одна причина геномной нестабильности фибробластов — накопление оксидативных повреждений ДНК. Так, с возрастом в фибробластах, находящихся в условиях постоянного оксидативного стресса, накапливаются окисленные белки, например липофусцин, также известный как «пигмент старения». Липофусцин образуется и накапливается в результате окисления ненасыщенных жиров или в случае повреждения мембран органелл, в особенности при повреждении митохондрий и лизосом. Наибольшее содержание липофусцина отмечается в митотически неактивных клетках. Накопившийся в фибробластах кожи липофусцин при старении не может расщепиться — это связано с нарушением аутофагии. Существует корреляция высокого уровня цитозольного липофусцина и пониженной жизнеспособности клеток в сочетании с повышенным образованием прооксидантов, катализируемым липофусцином [20]. Для фибробластов кожи аутофагия является фактором, который влияет на скорость старения [22] и, следовательно, может быть потенциальной мишенью для антивозрастных средств [33].

Для нормального течения репаративных процессов в коже необходим оптимальный уровень миграции фибробластов. В исследовании *in vitro* было показано замедление миграции фибробластов кожи у людей пожилого возраста по сравнению с клетками, полученными от молодых доноров. Снижение миграционной способности фибробластов дермы обусловлено дезорганизацией актинового цитоскелета и уменьшением экспрессии $\alpha_2\beta_1$-интегринов, связывающихся с ламинином и коллагеном 1-го типа [21]. В контексте миграционной способности фибробластов большой интерес для изучения представляет цитоплазматический белок паксиллин. Паксиллины, в семейство которых входят также белки *Hic-5*, *PaxB* и лейпаксин, образуют цепь, соединяющую между собой внутриклеточный домен интегрина с актиновыми филаментами клетки. Благодаря этой связи клетка приобретает способность к распластыванию и перемещению по субстрату. В структуре молекулы паксиллина, помимо участка, обеспечивающего непосредственное связывание с внутриклеточным доменом интегринов, обнаружены сайты связывания с другими структурными и сигнальными белками (винкулин, актопаксин и различные киназы) [38]. Паксиллин опосредует передачу сигналов между интегринами и факторами роста, активирует ремоделирование цитоскелета.

Передача сигналов через паксиллин влияет на изменение экспрессии генов винкулина (белок цитоскелета) и киназы *PTK2*, участвующей в процессах клеточной адгезии и миграции, а также на пролиферацию клеток и организацию ВКМ, что важно для регенерации тканей. С возрастом экспрессия паксиллина в фибробластах снижается, что приводит к нарушениям структуры ВКМ. К семейству паксиллинов относят также белок *Hic-5*. При этом свои функции паксиллин и *Hic-5* реализуют по различным механизмам. Паксиллин регулирует процесс адгезии через киназу *JAK*1, а *Hic-5* контролирует деградацию ВКМ через белок *IQGAP*1 (также известный как *p*195). Таким образом, соотношение паксиллина и *Hic-5* обеспечивает адекватное протекание адгезивных процессов, а нарушение этого соотношения, вероятно, может привести к преждевременному старению фибробластов кожи [28].

Установлено, что в естественном и преждевременном старении клеток кожи участвует

белок аквапорин-3 (*AQP3*). В дерме экспрессию *AQP3* наблюдали в фибробластах и эндотелии, причем на участках кожи, не защищенных от воздействия солнечного света, экспрессия *AQP3* на 10–30 % снижалась по сравнению с защищенной от солнца кожей у людей молодого и среднего возраста. *AQP3* является аквагликеропорином, который участвует в гидратации кожи, пролиферации и миграции фибробластов дермы [36].

В другом исследовании показана роль рецепторов половых гормонов в старении фибробластов кожи. В защищенных от солнца фибробластах кожи у людей молодого и среднего возраста экспрессия рецепторов эстрогена β (*ERβ*) и андрогена (*AR*) была на 40–50 % выше по сравнению с незащищенной от солнца кожей у людей обеих возрастных групп [35].

Роль мелатонина в поддержании функциональной активности фибробластов кожи при их старении

Важную роль в поддержании функции фибробластов кожи играет гормон мелатонин. Противовоспалительное и антиоксидантное действие мелатонина в сочетании с регуляцией функции митохондрий делает его интересным объектом для изучения в качестве вещества, замедляющего процесс старения кожи. У животных с пинеалэктомией наблюдают эпидермальную атрофию, нерегулярное и свободное распределение коллагеновых и эластиновых волокон, резкое уменьшение объемов ВКМ. Кожа человека и волосяные фолликулы экспрессируют рецепторы мелатонина и участвуют в его синтезе. Было показано, что местно применяемый мелатонин уменьшает образование АФК и устраняет признаки старения фибробластов кожи [13].

Интересные данные получены D. Sagan и соавт. [32] о влиянии мелатонина на кожу курящих женщин в период менопаузы. Авторы оценивали уровень ПОЛ у женщин 46–67 лет, 44 из которых не употребляли сигареты в течение жизни, а 46 употребляли сигареты какое-то время, после чего бросили курить. Было показано, что пероральное лечение мелатонином значительно улучшает состояние кожи у куривших женщин, снижая уровень ПОЛ в сыворотке крови и в эпидермисе кожи. Внешние проявления действия мелатонина также фиксировали, и по истечении 4 нед кожа была более увлажненной и эластичной, чем до лечения. Местное применение мелатонина при этом увеличивало жирность кожи. Авторами был сделан вывод о том, что экзогенный мелатонин устраняет окислительное повреждение мембранных липидов и улучшает биофизические характеристики кожи у женщин в менопаузе, употреблявших сигареты в течение жизни [32].

Заключение

Старение кожи включает генетические (накопление ошибок в ядерной и мхДНК клеток) и эпигенетические (воздействие УФ-излучения, других внешних агентов) факторы. Большинство данных литературы свидетельствует о ведущей роли фибробластов в поддержании функциональной активности кожи, в том числе и при ее старении. Накопление ошибок в геноме клеток, УФ-излучение, окислительный стресс, гормональные нарушения приводят к снижению пролиферативной и миграционной способности фибробластов, синтеза коллагена и эластина, образованию гликированных форм этих белков. Данный каскад реакций обусловлен изменением экспрессии ряда сигнальных молекул (*AP*-1, *NF*-κ*B*, *c-jun*, *CCN*1, *TGF*-β, *TNF*-α, *MMP*-1, *MMP*-3, *MMP*-8, *MMP*-9, паксиллины, аквапорин-3) при старении фибробластов кожи. Важный вклад в темпы старения фибробластов кожи вносит состояние эндокринной системы организма, в особенности синтез мелатонина и экспрессия рецепторов к эстрогенам и андрогенам в этих клетках. Понимание молекулярно-клеточных аспектов старения фибробластов является важным шагом для научного обоснования применения косметологических средств для замедления темпа и проявлений старения кожи.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Батыршина С.В.* Кожа и женские половые гормоны. Влияние заместительной гормональной терапии на состояние кожи // Практич. мед. 2015. № 1. С. 11–15.

2. *Гриценко М.А.* Фибробласты в процессе развития и старения организма // Вестн. Харьков. нац. ун-та им. В.Н.Каразина (серия «Биология»). 2013. Т. 17. № 1056. С. 10–16.

3. *Зорина А.И., Бозо И.Я., Зорин В.Л. и др.* Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения // Гены & Клетки. 2011. Т. 6. № 2. С. 15–26.

4. *Зорина А.И., Зорин В., Черкасов В.* Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи // Эстет. мед. 2012. Т. 11. № 1. С. 15–31.

5. Лыкова С.Г., Свечникова Е.В., Моржанаева М.А. Конечные продукты гликирования как биомаркеры старения // Вестн. Рос. акад. естествен. наук. 2018. № 2. С. 71–77.

6. Шепитько В.И., Ерошенко Г.А., Лисаченко О.Д. Возрастные аспекты строения кожи лица человека // Мир мед. и биол. 2013. № 3–2. С. 91–97.

7. Addor F.A.S. Beyond photoaging: additional factors involved in the process of skin aging // Clin. Cosmet. Investig. Dermat. 2018. Vol. 11. P. 437–443.

8. Avila Rodríguez M.I., Rodríguez Barroso L.G., Sánchez M.L. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications // J. Cosmet. Dermat. 2018. Vol. 17. P. 20–26.

9. Blais M., Mottier L., Germain M.A. Sensory neurons accelerate skin reepithelialization via substance P in an innervated tissue-engineered wound healing model // Tiss. Eng. Part A. 2014. Vol. 20. P. 2180–2188.

10. Chen H., Weng Q.Y., Fisher D.E. UV signaling pathways within the skin // J. Invest. Dermat. 2014. Vol. 134. P. 2080–2085.

11. Commander S.J., Chang D., Fakhro A. et al. Noninvasive Facial Rejuvenation. Part 1: Patient-Directed // Seminars Plast. Surg. 2016. Vol. 30. P. 129–133.

12. Costantini D., Smith S., Killen S.S. et al. The Greenland shark: A new challenge for the oxidative stress theory of ageing? // Comp. Biochem. Physiol. A. Molec. Integr. Physiol. 2017. Vol. 203. P. 227–232.

13. Day D., Burgess C.M., Kircik L.H. Assessing the Potential Role for Topical Melatonin in an Antiaging Skin Regimen // J. Drugs Dermat. 2018. Vol. 17. P. 966–969.

14. Fleming T.H., Humpert P.M., Nawroth P.P., Bierhaus A. Reactive metabolites and AGE/RAGEmediated cellular dysfunction affect the aging process: a mini-review // Gerontology. 2011. Vol. 57. P. 435–443.

15. Fulop T., Witkowski J.M., Pawelec G. et al. On the immunological theory of aging // Interdiscip. Top. Geront. 2014. Vol. 39. P. 163–176. doi: 10.1159/000358904

16. Gkogkolou P., Böhm M. Advanced glycation end products: Key players in skin aging? // Dermatoendocrinology. 2012. Vol. 4. P. 259–270.

17. Go Y.M., Jones D.P. Redox theory of aging: implications for health and disease // Clin. Sci. (Lond). 2017. Vol. 131. P. 1669–1688.

18. Halbina A., Trznadel-Grodzka E., Rotsztejn H. Fractional laser therapy — the next step in alleviating the symptoms of skin aging (own observations) // Prz. Menopauzalny. 2014. Vol. 13. P. 132–135. doi: 10.5114/pm.2014.42716.

19. Hodges A.L., Walker D.K. Skin Care for Women // Nurs Womens Hlth. 2017. Vol. 20. P. 609–613.

20. Höhn A., Sittig A., Jung T. et al. Lipofuscin is formed independently of macroautophagy and lysosomal activity in stress-induced prematurely senescent human fibroblasts // Free Radic. Biol. Med. 2012. Vol. 53. № 9. P. 1760–1769.

21. Karna E., Szoka L., Palka J.A. The mechanism of hydralazine-induced collagen biosynthesis in cultured fibroblasts // Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 2013. Vol. 386. P. 303–309. doi: 10.1007/s00210-013-0836-5

22. Kim H.S., Park S.Y., Moon S.H. et al. Autophagy in Human Skin Fibroblasts: Impact of Age // Int. J. molec. Sci. 2018. Vol. 19. pii: E2254. doi: 10.3390/ijms19082254

23. Krutmann J., Morita A., Chung J.H. Sun exposure: what molecular photodermatology tells us about its good and bad sides. // J. Invest. Dermat. 2012. Vol. 132. P. 976–984.

24. Lee E.J., Kim J.Y., Ho S. Advanced glycation end products (AGEs) promote melanogenesis through receptor for AGEs // Sci. Rep. 2016. № 6. P. 27848. doi: 10.1038/srep27848

25. Lee Y.K., Cha H.J., Hong M. et al. Role of NF-κB-p53 crosstalk in ultraviolet A-induced cell death and G1 arrest in human dermal fibroblasts. // Arch. Dermat. Res. 2012. Vol. 304. P. 73–79. doi: 10.1007/s00403-011-1176-2

26. Lipozenčić J., Bukvić Mokos Z. Dermatologic lasers in the treatment of aging skin // Acta Dermatovenerol. Croat. 2010. Vol. 18. P. 176–180.

27. Orioli D., Dellambra E. Epigenetic Regulation of Skin Cells in Natural Aging and Premature Aging Diseases // Cells. 2018. Vol. 7. pii: E268. doi: 10.3390/cells7120268

28. Petropoulos C., Oddou C., Emadali A. et al. Roles of paxillin family members in adhesion and ECM degradation coupling at invadosomes // J. Cell Biol. 2016. Vol. 213. P. 585–599.

29. Quan T., Qin Z., Robichaud P. et al. CCN1 contributes to skin connective tissue aging by inducing age-associated secretory phenotype in human skin dermal fibroblasts // J. Cell Commun. Signal. 2011. Vol. 5. P. 201–207.

30. Rittié L., Fisher G.J. Natural and sun-induced aging of human skin. Cold Spring // Harb. Perspect. Med. 2015. Vol. 5. P. a015370.

31. Rodier F., Munoz D.P., Teachenor R. et al. DNA-SCARS: distinct nuclear structures that sustain damage-induced senescence growth arrest and inflammatory cytokine secretion // J. Cell Sci. 2011. Vol. 124. P. 68–81.

32. Sagan D., Stepniak J., Gesing A. et al. Melatonin reverses the enhanced oxidative damage to membrane lipids and improves skin biophysical characteristics in former-smokers — A study in postmenopausal women // Ann. Agric. Environm. Med. 2017. Vol. 24. P. 659–666. doi: 10.5604/12321966.1235174

33. Schiavi A., Torgovnick A., Kell A. et al. Autophagy induction extends lifespan and reduces lipid content in response to frataxin silencing in C. elegans. // Exp. Geront. 2013. Vol. 48. P. 191–201.

34. Sedelnikova O.A., Horikawa I., Zimonjic D.B. et al. Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unrepairable double-strand breaks. // Nat. Cell Biol. 2004. Vol. 6. P. 168–170.

35. Seleit I., Bakry O.A., El Repey H.S., Ali R. Intrinsic versus Extrinsic Aging: A Histopathological, Morphometric and Immunohistochemical Study of Estrogen Receptor β and Androgen Receptor // Skin Pharmacol. Physiol. 2016. Vol. 29. P. 178–189. doi: 10.1159/000446662

36. Seleit I., Bakry O.A., El Rebey H.S. et al. Is Aquaporin-3 a Determinant Factor of Intrinsic and Extrinsic Aging? An Immunohistochemical and Morphometric Study // Appl. Immunohistochem. molec. Morphol. 2017. Vol. 25. P. 49–57.

37. Singh B., Schoeb T.R., Bajpai P. et al. Reversing wrinkled skin and hair loss in mice by restoring mitochondrial function // Cell Death Dis. 2018. Vol. 9. P. 735.

38. Skoczyńska A., Budzisz E., Podgórna K., Rotsztejn H. Paxillin and its role in the aging process of skin cells // Postepy Hig. Med. Dosw. (Online). 2016. Vol. 70. P. 1087–1094.

39. Sorrell M., Caplan A.I. Fibroblasts — a diverse population at the center of it all // Int. Rev. Cell molec. Biol. 2009. Vol. 276. P. 161–214.

40. Tigges J., Krutmann J., Fritsche E. et al. The hallmarks of fibroblast ageing // Mech. Ageing Dev. 2014. Vol. 138. P. 26–44.

41. Tobin D.J. Introduction to skin aging // J. Tiss. Viability. 2017. Vol. 26. № 1. P. 37–46.

42. Vumma R., Johansson J., Venizelos N. Proinflammatory Cytokines and Oxidative Stress Decrease the Transport of Dopamine Precursor Tyrosine in Human Fibroblasts // Neuropsychobiology. 2017. Vol. 75. P. 178–184.

43. Yin R., Chen Q., Hamblin M.R. Skin aging and photoaging. San Rafael. Morgan & Claypool Publishers, 2015. Ch. 1. P. 1–4.

Поступила в редакцию 17.04.2019
После доработки 17.04.2019
Принята к публикации 21.05.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 908–914

E. O. Gutop [1], A. S. Diatlova [1], N. S. Linkova [1, 2], O. A. Orlova [1], S. V. Trofimova [1, 2], V. Kh. Khavinson [1, 3, 4]

AGING OF SKIN FIBROBLASTS: GENETIC AND EPIGENETIC FACTORS

[1] Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3 pr. Dinamo, St. Petersburg 197110, e-mail: miayy@yandex.ru; [2] Academy of Postgraduate Education, 91 Volokolamskoe shosse, Moscow 125371; [3] I. P. Pavlov Institute of Physiology, 6 Makarova emb., St. Petersburg 199034; [4] I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, 41 Kirochnaya str., St. Petersburg 191015

Gerontocosmetology is the rapid developing knowledge area that has a very large applied meaning. Herewith a lot of information about skin aging and geroprotectors for skin rejuvenation hasn't a scientific background. Thus, understanding the fundamental mechanisms of skin aging becomes the actual task of molecular gerontology. Skin fibroblasts are the polyfunctional cell population that synthesize a number of biologically active substances and participate in maintaining of extracellular matrix homeostasis, skin hydratation and endocrine and immune function. In the review genetic (accumulation of nuclear and mitochondrial DNA mistakes) and epigenetic factors of skin fibroblasts aging are described. Role of *AP*-1, *NF-κB*, *c-jun*, *CCN*1, *TGF*-β, *TNF*-α, *MMP*-1, *MMP*-3, *MMP*-8, *MMP*-9 and glycation in skin fibroblasts aging are discussed. There are some data about decreasing of skin fibroblasts ability to migration and synthesis of paxillins and aquaporin-3 (*AQP*3) during aging. Role of hormonal regulation in skin fibroblasts aging are described. Geroprotective action of melatonin to skin fibroblasts are showed. Reviewed molecular-cellular aspects of skin fibroblasts aging can be take into consideration for scientific background of using of cosmetic products for retarding of skin aging rate.

Key words: *skin fibroblasts, aging, signal molecules, melatonin*

© Л. К. Хужахметова, Д. Л. Теплый, Е. Д. Бажанова, 2019
Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 915–922
УДК 611.814.1.018:612.67:615.44:599.323.4

Л. К. Хужахметова[1], *Д. Л. Теплый*[2], *Е. Д. Бажанова*[2, 3, 4]

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ АПОПТОЗА НЕЙРОНОВ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА И ПИНЕАЛОЦИТОВ У КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ И СТРЕССЕ*

[1] Астраханский государственный медицинский университет, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121;
[2] Астраханский государственный университет, 414040, Астрахань, ул. Татищева, 20а, e-mail: bazhanovae@mail.ru;
[3] Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1;
[4] Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

Как известно, эпифиз играет важную роль в адаптогенезе, а гипоталамус является одним из основных звеньев стресс-реактивной системы и участвует в регуляции инволюции всего организма. Исследование изменений данных органов при стрессе и старении представляет значительный интерес. Цель работы — исследование механизмов апоптоза пинеалоцитов и нейросекреторных клеток супрахиазматического ядра гипоталамуса при старении, стрессе и в условиях фармакологической коррекции инволюционных процессов и стрессового ответа (антиоксидант α-токоферола ацетат, иммуномодулятор Циклоферон). На модели крыс линии *Wistar*, молодых (10–12 мес) и старых (24–30 мес), с помощью метода TUNEL и иммуногистохимии изучены возрастные особенности динамики апоптоза пинеалоцитов и нейросекреторных клеток супрахиазматического ядра гипоталамуса, определены возможности фармакологической коррекции апоптозных процессов. Выявлено возрастзависимое повышение уровня апоптоза клеток супрахиазматического ядра и эпифиза у крыс. Стрессорное воздействие (иммобилизация) приводило к интенсификации клеточной гибели, более значительной у старых животных, то есть данные центры, традиционно считающиеся регуляторами циркадных ритмов, в то же время активно участвуют в общих процессах адаптации. Исследуемые препараты (α-токоферола ацетат, Циклоферон и их сочетание) оказывают выраженное антиапоптозное, цитопротекторное действие в физиологических условиях при старении, а также при неспецифическом эмоциональном стрессе (иммобилизация) у молодых и старых животных. Регуляторный эффект осуществляется путем активации экспрессии антиапоптозного белка *Bcl*-2 в нейросекреторных клетках супрахиазматического ядра и пинеалоцитах.

***Ключевые слова:** апоптоз, Bcl-2, старение, иммобилизационный стресс, супрахиазматическое ядро, нейросекреторные клетки гипоталамуса, эпифиз, пинеалоциты, крысы*

В настоящее время показано, что нейродегенеративные заболевания, старение и снижение продолжительности жизни связаны с функцией циркадных часов млекопитающих. Циркадный ритм — это фундаментальный физиологический процесс, присутствующий во всех организмах, который регулирует биологические процессы — от экспрессии генов до поведения и сна. У позвоночных циркадный ритм контролируется молекулярным осциллятором, который функционирует как в супрахиазматическом ядре и эпифизе — центральном звене данной системы, так и в отдельных клетках большинства периферических тканей. Циркадный ритм — важный компонент ряда физиологических и патологических процессов, в том числе высвобождения гормонов, терморегуляции и циклов сна—бодрствования. Нарушение биологического ритма при воздействии света в ночной период, стрессоров окружающей среды и/или токсикантов связано с повышенным риском развития хронических заболеваний и старения. Способность идентифицировать агенты, которые могут нарушать центральные и/или периферические биологические часы и предотвратить или смягчить последствия нарушения циркадных ритмов, играет важную роль в профилактике хронических заболеваний [8].

Эпифиз, тесно связанный с главным циркадным пейсмекером — супрахиазматическим ядром гипоталамуса, с кортиколиберин-продуцирующими нейронами паравентрикулярных

* Работа выполнена при поддержке Гос. задания по теме № АААА-А18-118012290371-3.

ядер гипоталамуса и сетчаткой, как нейроэндокринный центр принимает участие не только в регуляции сопряженных с фотопериодизмом суточных и сезонных биоритмов, но и в адаптогенезе, соответственно, и в стрессовом ответе, как и гипоталамус [4, 14]. В конечном счете, циркадный ритм контролирует поведение, физиологические и биохимические процессы в клетках [11].

Функциональное состояние супрахиазматического ядра может играть важную роль в патофизиологии болезни Альцгеймера и развитии нарушений сна [18], в патогенезе болезни Хантингтона [10]. Нейродегенеративные расстройства, такие как болезни Альцгеймера и Паркинсона, могут прогрессировать в условиях изменения суточного ритма. Аналогичным образом, потеря правильного суточного ритма, угнетение функций эпифиза и тимуса могут привести к увеличению риска развития различных онкологических и аутоиммунных заболеваний [3]. Множество внутриклеточных механизмов, таких, например, как аутофагия, пролиферация и так далее, тесно связаны с физиологическим регулированием суточного ритма организма [11].

Снижение синтеза мелатонина и, соответственно, нарушения циркадного ритма связаны также с изменениями иммунной системы, патологией энергетического обмена. Показано, что некоторые медиаторы иммунной системы влияют на нормальную функцию биоритмов. Нарушение синхронизации организма вызывает иммунный ответ, который индуцирует экспрессию провоспалительных медиаторов, что в свою очередь вызывает дальнейшее изменение биологических часов. Биоритм митохондриальной функции нарушается, что приводит к биоэнергетическому распаду и образованию АФК, которые, в свою очередь, активируют воспаление. Это объясняет вовлечение *IL*-1β и других иммуномодуляторов в патогенез десинхронозов. Введение мелатонина приводит к восстановлению биоритмов, что сопровождается нормализацией иммунитета и митохондриального гомеостаза [6].

Поскольку эпифиз играет важную роль в адаптогенезе, а гипоталамус является одним из основных звеньев стресс-реактивной системы и, по мнению многих авторов, участвует в инициации процессов инволюции всего организма, исследование изменений данных органов при стрессе и старении представляет значительный интерес. Целью работы было исследование механизмов апоптоза пинеалоцитов и нейросекреторных клеток супрахиазматического ядра гипоталамуса при старении, стрессе и в условиях фармакологической коррекции инволюционных процессов и стрессового ответа (антиоксидант α-токоферола ацетат, иммуномодулятор Циклоферон). Были поставлены задачи изучения возрастных особенностей корреляции темпов апоптоза пинеалоцитов с темпами апоптоза нейросекреторных клеток супрахиазматического ядра гипоталамуса, определения возможностей эффективной фармакологической коррекции апоптозных процессов за счет отмены избыточной активации апоптоза при интенсификации свободнорадикальных процессов в эпифизе и нейроэндокринных клетках гипоталамуса стареющего организма.

Материалы и методы

Обследованы крысы-самцы линии *Wistar*, молодые (10–12 мес) и старые (24–30 мес). Животных содержали по 8 особей в клетке в стандартных условиях вивария, обеспечивая свободный доступ к воде и корму. Температура воздуха — 18–22 °С, относительная влажность воздуха — 50–65 %.

Каждая возрастная группа животных (10–12-месячные, n=64, и 24–30-месячные, n=64) была поделена на 8 групп по 8 крыс в каждой группе (всего 16 групп): 1-я — контрольная группа; 2-я — крысы, получавшие масляный 10 % раствор α-токоферола ацетата (витамин *E*); 3-я — крысы, получавшие Циклоферон; 4-я — крысы, получавшие совместно 10 % масляный раствор α-токоферола ацетата и Циклоферон; 5-я — крысы, подвергшиеся иммобилизационному стрессу в пластиковых цилиндрах по 1 ч в день в течение 2 нед; 6-я — крысы в стрессе, получавшие предварительно 10 % масляный раствор α-токоферола ацетата в тех же дозах в течение 2 нед; 7-я — крысы в стрессе, получавшие предварительно Циклоферон в тех же дозах в течение 2 нед; 8-я — крысы в стрессе, получавшие предварительно раствор α-токоферола ацетата и Циклоферон в тех же дозах в течение 2 нед. Препараты вводили ежедневно *per os* 1 раз в сут в течение 14 дней в следующих дозах: масляный 10 % раствор α-токоферола ацетата в дозе 0,5 мг на 100 г массы тела; Циклоферон *per os* (0,77 мг на 100 г массы тела — молодым и 1,19 мг на 100 г массы тела — старым) — α-токоферола ацетат 10 % масляный раствор («НИЖФАРМ», Нижний Новгород), Циклоферон в таблет-

ках для приема внутрь 150 мг активного вещества («ПОЛИСАН», Санкт-Петербург). Дозы препаратов рассчитывали исходя из действующих терапевтических доз. Из эксперимента животных выводили золетиловым наркозом (Золетил 4 мг/кг массы) и декапитацией через сутки после окончания воздействия. Эксперименты выполняли в соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434–2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Приказом Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Материалом для исследования служили гипоталамическая область мозга, содержащая супрахиазматическое ядро, и эпифиз.

Для детекции апоптоза нейронов гипоталамического супрахиазматического ядра и клеток эпифиза применяли метод TUNEL — Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling («Sileks», Россия) — нерадиоактивное мечение биотином, выявление диаминобензидином с использованием терминальной дезоксинуклеотидилтрансферазы для выявления разрывов ДНК (http://www.cmmr.ca/protocols/tunel_labeling.pdf).

Определяли экспрессию антиапоптозного белка *Bcl-2* на срезах супрахиазматического ядра и эпифиза методом иммуногистохимии [17] с использованием немеченых антител («Abcam», США).

Изображения срезов гипоталамуса, содержащих супрахиазматическое ядро и эпифиз, после выполнения иммуногистохимических реакций и TUNEL получали с помощью микроскопа «PFM» («WPI», США) и цветной видеокамеры «DIC-E» («WPI», США), «Leika DFC 300 FX» (Германия), разрешение 1392×1040 пикселей (ув. 40). Для оценки интенсивности экспрессии изучаемых белков и уровня апоптоза использовали программы VideoTest Software (иммуногистохимия, TUNEL). Число апоптозных, или TUNEL-позитивных клеток (абсолютные значения, то есть подсчитывали число темноокрашенных клеток, взятое как среднее на один срез), подсчитывали на 4–5 срезах супрахиазматического ядра и эпифиза у каждой крысы с последующим определением среднего числа TUNEL-позитивных клеток на группу.

Оптическую плотность иммунореактивного вещества в *Bcl-2*-иммунореактивных клетках определяли на 5–6 срезах гипоталамуса (супрахиазматическое ядро) и эпифиза для каждой крысы, далее высчитывали среднюю оптическую плотность (выражена в относительных единицах, представляющих отношение яркости фона к яркости объекта) изучаемого белка для группы.

Полученные данные обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента ($p<0,05$) с помощью программы Microsoft Excel 5.0a.

Результаты и обсуждение

Уровень апоптоза и экспрессия Bcl-2 в нейросекреторных клетках супрахиазматического ядра

Как известно, циркадианные часы млекопитающих локализованы в супрахиазматическом ядре [11], однако данное ядро, как и все гипоталамические центры, также принимает участие в процессах адаптации и, соответственно, регуляции стрессового ответа организма. Функционирование супрахиазматического ядра зависит от состояния и работы эпифиза [11]. При старении происходят значительные изменения всех органов и тканей, как морфологические, так и функциональные. Показано значительное снижение числа клеток вследствие возрастзависимого апоптоза в паравентрикулярном и супраоптическом ядрах гипоталамуса [1] и в коре головного мозга [2]. Причиной этого является активация проапоптозных каскадов в нейронах мозга старых животных [1].

По данным литературы, изменения фотопериода влияют на активность участков мозга, ответственных за регуляцию циркадных ритмов — супрахиазматического ядра, префронтальной коры, *nucleus accumbens* и гиппокампа, в том числе на уровень клеточной гибели и регуляцию апоптозных процессов [20]. Апоптоз-ассоциированные белки *Bax* и *Bcl-2*, имеющие противоположно направленный паттерн экспрессии, отражают активацию апоптозных путей [18]. В настоящей работе мы исследовали экспрессию антиапоптозного белка *Bcl-2* в нейронах супрахиазматического ядра гипоталамуса и пинеалоцитах в онтогенезе, в физиологических условиях и при стрессе.

α-Токоферола ацетат является антиоксидантом и принимает активное участие в регуляции свободнорадикальных процессов в клетке. Известно, что он необходим для нормального функционирования нейронов, его регуляторная активность остается пока не до конца изученной. Дискутируется вопрос об определении критериев нормы в отношении уровня витамина *E* в мозге, но уже доказано

участие оксидативного стресса в патогенезе таких заболеваний, как атаксия, болезни Альцгеймера и Паркинсона [9]. Циклоферон (активное вещество — акридонуксусная кислота) — это экзогенный низкомолекулярный индуктор эндогенных интерферонов. Данные вещества широко используют в клинической практике, однако механизм их влияния на регуляцию апоптоза до сих пор полностью не изучен. Мы показали, что уровень *Bcl-2* в нейросекреторных клетках супрахиазматического ядра невысок и возрастает в группах молодых животных, получавших витамин *E* и Циклоферон. Одновременно в этих группах крыс наблюдали снижение уровня апоптоза нейросекреторных клеток супрахиазматического ядра (*рис. 1*), таким образом, антиапоптозная функция белка *Bcl-2* успешно реализуется при его активации исследованными препаратами.

Стресс не приводит к изменению экспрессии данного антиапоптозного белка, однако предварительное введение Циклоферона индуцирует синтез *Bcl-2* в нейронах супрахиазматического ядра. При этом число гибнущих клеток значительно снижается у молодых крыс, получавших перед стрессом α-токоферола ацетат, Циклоферон и оба эти препарата вместе, по сравнению с группой крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу без введения изучаемых лекарственных средств (см. рис. 1, *а*).

У старых животных экспрессия *Bcl-2* в нейросекреторных клетках супрахиазматического ядра несколько ниже, чем у молодых, хотя уровень апоптоза значительно превышает таковой у молодых крыс (см. рис. 1, *б*). Это может быть результатом возрастзависимого повышения экспрессии проапоптозного белка *p53*, выявленного нами ранее в супрахиазматическом ядре старых крыс [5]. Введение витамина *E*, Циклоферона и их комбинации не приводит к изменениям синтеза изучаемого белка, в отличие от молодых животных. Так, содержание *Bcl-2* у молодых крыс, получавших Циклоферон, больше, чем у старых, за счет интенсификации синтеза, обусловленной, очевидно, введением иммуномодулятора. При стрессе экспрессия *Bcl-2* возрастает, снижаясь в группах у старых крыс, получавших α-токоферола ацетат, Циклоферон и сочетание этих препаратов (см. рис. 1, б). Уровень апоптоза нейросекреторных клеток увеличивается у животных в стрессе, что обусловлено активацией *p53*-зависимого сигналинга [5], и снижается в группах у старых крыс, получавших исследуемые препараты.

Ранее показано, что нарушение светового режима индуцирует развитие депрессии и тревожности у мышей линии *C57BL/6*, а также повреждает пространственную память. Данные нарушения реализуются посредством морфофункциональных повреждений супрахиазматического ядра. Регуляция нейронального апоптоза в супрахиазматическом ядре при патологии может быть опосредована изменением экспрессии часовых генов *Per-1*, *Per-2* и *NPAS-2* [16]. Выявлена связь нарушения экспрессии онкосупрессора *HINT1* (histidine triad nucleotide binding protein 1), одного из регуляторов апоптоза, ингибирующего *Wnt/β-catenin*-сигнальный путь, что вызывало изменение синтеза *Bax* и *Bcl-2*, и развития эмоциональных повреждений у мышей, подвергшихся стрессу [20].

Наши результаты показывают, что неспецифический стресс, не связанный с изменением светового режима, оказывает значительное влияние на данное ядро и вызывает нарушения регуляции апоптоза как у молодых, так и у старых животных.

Уровень апоптоза и экспрессия Bcl-2 в пинеалоцитах эпифиза

Экспрессия антиапоптозного белка *Bcl-2* в пинеалоцитах у молодых крыс контрольной группы невысока и значительно повышалась в экспериментальных группах при введении α-токоферола ацетата, Циклоферона, их сочетания, в группе животных в стрессе, а также у крыс, получавших перед стрессом витамин *E* (*рис. 2, а*). При этом наблюдали снижение уровня апоптоза клеток эпифиза у молодых крыс трех групп, которым вводили данные препараты и их сочетание. Однако при иммобилизационном стрессе, несмотря на интенсификацию экспрессии *Bcl-2*, доля гибнущих пинеалоцитов увеличивалась. Предварительное введение витамина *E* и последующий стресс показали повышение количества *Bcl-2* в пинеалоцитах у молодых крыс, коррелирующее со значительным снижением уровня апоптоза. В группах крыс, получавших Циклоферон и комбинацию циклоферона и α-токоферола ацетата перед стрессом, экспрессия *Bcl-2* находилась на уровне контрольных групп, хотя число пинеалоцитов, подвергшихся программированной клеточной смерти, было снижено по сравнению с данным показателем у крыс, подвергнутых стрессу (см. рис. 2, а). По данным некоторых авторов, подобное действие может быть опосредовано мелатонином, который также является антиоксидантом. Мелатонин снижает липид-

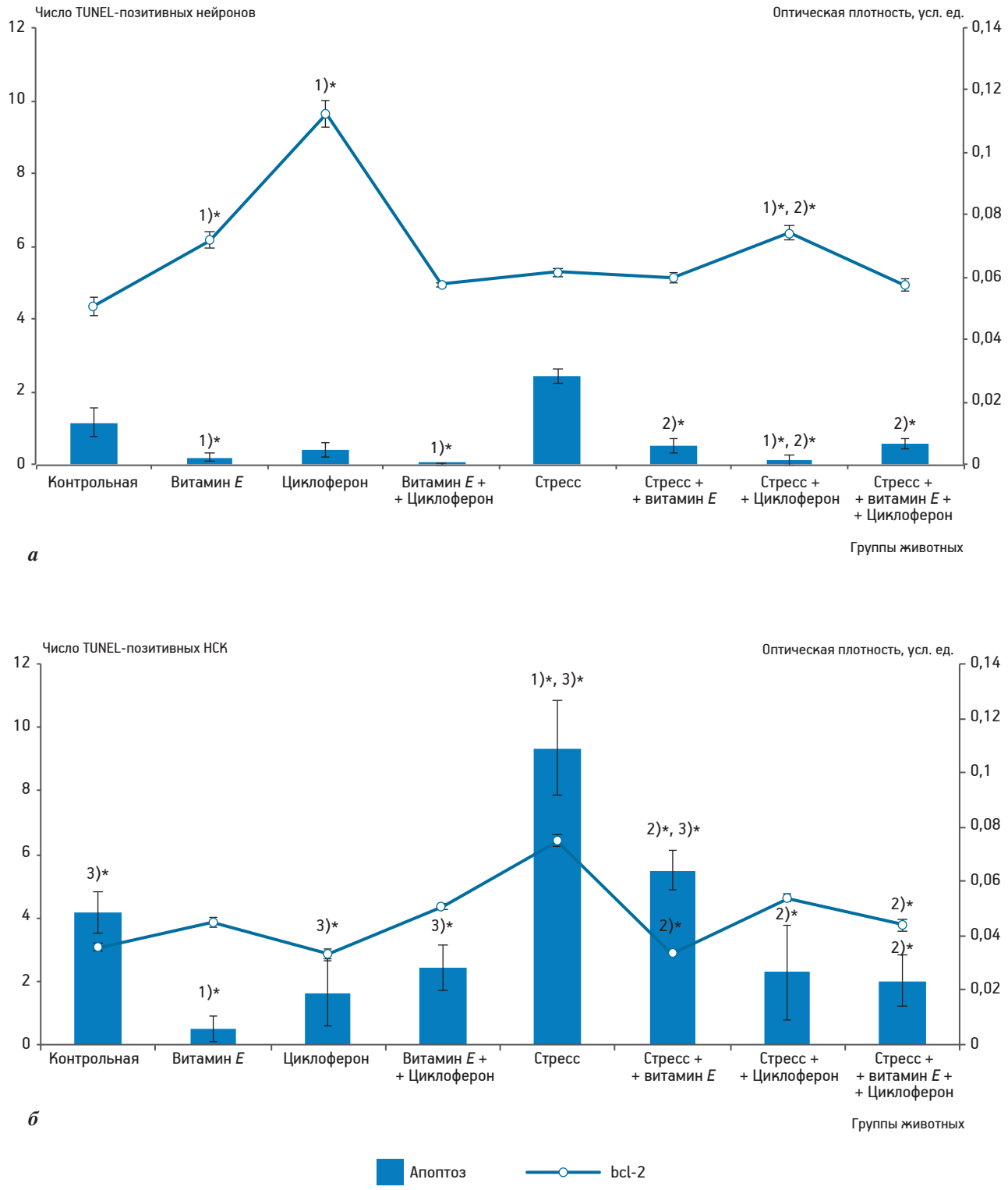


Рис. 1. Уровень апоптоза клеток (левая ось ординат) и содержание Bcl-2-иммунореактивного материала (правая ось ординат) в супрахиазматическом ядре у молодых (а) и старых (б) крыс.

Здесь и на рис. 2: 1) достоверность различий в сравнении с контрольной группой животных, $p<0,05$; 2)* достоверность различий между группой «Стресс» и группами «Стресс+витамин Е», «Стресс+Циклоферон», «Стресс+витамин Е+Циклоферон» в своей возрастной группе животных, $p<0,05$; 3)* достоверность различий между молодыми и старыми животными, $p<0,05$*

ную пероксидацию при оксидативном стрессе и, кроме того, усиливает противорадикальное действие токоферола [12, 13].

У старых крыс контрольных групп экспрессия белка *Bcl-2* в пинеалоцитах больше, чем у молодых (см. рис. 2, *б*). Несмотря на это, у животных

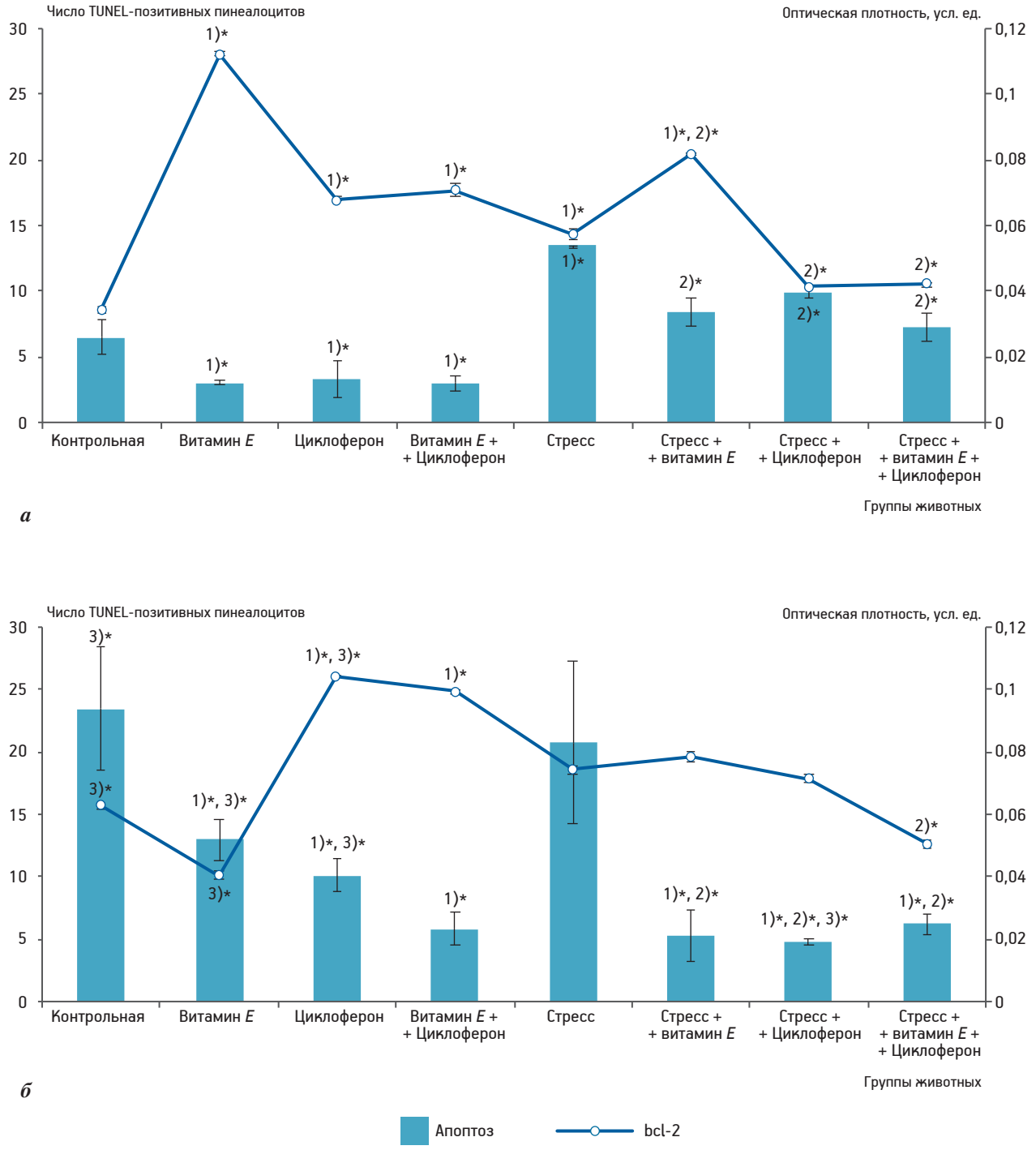


Рис. 2. Уровень апоптоза клеток (левая ось ординат) и содержание Bcl-2-иммунореактивного материала (правая ось ординат) в эпифизе у молодых (а) и старых (б) крыс

на поздних этапах онтогенеза уровень апоптоза клеток эпифиза в несколько раз превышает таковой у молодых. При введении α-токоферола ацетата не происходило изменений, хотя усиление экспрессии в аналогичной группе у молодых крыс приводило к появлению достоверных различий между группами. Напротив, значительные различия показателей экспрессии *Bcl-2* в пинеалоцитах крыс разных возрастных групп, получавших Циклоферон, вызваны усилением синтеза у старых животных. Содержание данного антиапоптозного белка в клетках эпифиза у старых крыс, получавших комбинацию препаратов, так же высоко. При этом уровень апоптоза пинеалоцитов был значительно снижен во всех группах старых крыс, получавших препараты. Ранее было показано анти-

апоптозное действие токоферола [7, 15] вследствие его влияния на дисрегуляцию *Cyclin D1* и снижение уровня мутантного *p53*, что значительно уменьшает риск опухолей [7]. Другой выявленный механизм — активация транскрипционного фактора *Nrf2* и *Bcl2*, что предупреждает апоптоз и приводит к повышению клеточного выживания [19].

Экспрессия белка *Bcl-2* в пинеалоцитах у старых крыс всех групп, подвергшихся иммобилизационному стрессу, независимо от введения препаратов, соответствовала примерно базовому уровню. Число гибнущих пинеалоцитов было высоким у крыс, подвергнутых стрессу, примерно равным этому показателю у контрольных животных, и низким в группах крыс, получавших перед стрессом α-токоферола ацетат, Циклоферон и их сочетание (см. рис. 2, б).

Заключение

Таким образом, выявлено возрастзависимое повышение уровня апоптоза клеток супрахиазматического ядра и эпифиза у крыс. Стрессорное воздействие (иммобилизация) приводило к интенсификации клеточной гибели, более значительной у старых животных, то есть данные центры, традиционно считающиеся регуляторами циркадных ритмов, в то же время активно участвуют в общих процессах адаптации.

Можно заключить, что исследуемые препараты (α-токоферола ацетат, Циклоферон) и их сочетание оказывают выраженное антиапоптозное, цитопротекторное действие при неспецифическом эмоциональном стрессе у молодых и старых животных. Регуляторный эффект осуществляется путем активации экспрессии антиапоптозного белка *Bcl-2* в нейросекреторных клетках супрахиазматического ядра и пинеалоцитах.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Бажанова Е.Д., Анисимов В.Н.* Роль транскрипционных факторов STAT в регуляции апоптоза нейронов гипоталамуса при старении у трансгенных мышей HER_2/neu и мышей дикого типа линии FVB/N // Докл. АН. 2016. Т. 468. № 5. С. 579–581.

2. *Бажанова Е.Д., Козлова Ю.О., Анисимов В.Н. и др.* Фармакологическая коррекция уровня апоптоза нейронов коры у трансгенных мышей HER2/neu при старении // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2016. Т. 52. № 1. С. 58–66.

3. *Линькова Н.С., Полякова В.О., Кветной И.М. и др.* Особенности эпифизарно-тимических отношений при старении // Успехи геронтол. 2011. Т. 24. № 1. С. 38–42.

4. *Слепушкин В.Д., Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. и др.* Эпифиз, иммунитет и рак (теоретические и клинические аспекты). Томск: Изд-во Том. ун-та, 1990.

5. *Хужахметова Л.К., Беляева М.М., Теплый Д.Л., Бажанова Е.Д.* Роль а-токоферола и циклоферона в регуляции апоптоза нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса и пинеалоцитов при стрессе и старении // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2019. Т. 5 (в печати).

6. *Acuña-Castroviejo D., Rahim I., Acuña-Fernández C. et al.* Melatonin, clock genes and mitochondria in sepsis // Cell. molec. Life Sci. 2017. Vol. 74. № 21. P. 3965–3987. doi: 10.1007/s00018-017-2610-1

7. *Ayinampudi B.K., Varikoti S.B., Baghirath P.V. et al.* Assessing alpha-tocopherol levels in patients with keratocystic odontogenic tumor: A cross-sectional study // Indian. J. Dent. Res. 2017. Vol. 28. № 2. P. 122–125. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_714_16

8. *Fang M., Kang H.G., Park Y. et al.* In Vitro Bioluminescence Assay to Characterize Circadian Rhythm in Mammary Epithelial Cells // J. Vis. Exp. 2017. Vol. 127. doi: 10.3791/55832

9. *Lee P., Ulatowski L.M.* Vitamin E: Mechanism of transport and regulation in the CNS // IUBMB Life. 2019. Vol. 71. № 4. P. 424–429. doi: 10.1002/iub.1993

10. *Lin M.S., Liao P.Y., Chen H.M. et al.* Degeneration of ipRGCs in Mouse Models of Huntington's Disease Disrupts Non-Image-Forming Behaviors Before Motor Impairment // J. Neurosci. 2019. Vol. 39. № 8. P. 1505–1524. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0571-18.2018

11. *Maiese K.* Moving to the Rhythm with Clock (Circadian) Genes, Autophagy, mTOR, and SIRT1 in Degenerative Disease and Cancer // Curr. Neurovasc. Res. 2017. Vol. 14. № 3. P. 299–304. doi: 10.2174/1567202614666170718092010

12. *Marchetti C., Sidahmed-Adrar N., Collin F. et al.* Melatonin protects PLPC liposomes and LDL towards radical-induced oxidation // J. Pineal. Res. 2011. Vol. 51. № 3. P. 286–296. doi: 10.1111/j.1600–079X.2011.00889.x

13. *Milczarek R., Hallmann A., Sokołowska E. et al.* Melatonin enhances antioxidant action of alpha-tocopherol and ascorbate against NADPH- and iron-dependent lipid peroxidation in human placental mitochondria // J. Pineal. Res. 2010. Vol. 49. № 2. P. 149–155. doi: 10.1111/j.1600–079X.2010.00779.x

14. *Moller M.* Fine structure of the pinealopetal innervation of the mammalian pineal gland // Microsc. Res. And Techn. 1997. Vol. 21. № 3. P. 188–204.

15. *Savorani C., Manfé V., Biskup E., Gniadecki R.* Ellipticine induces apoptosis in T-cell lymphoma via oxidative DNA damage // Leuk. Lymphoma. 2015. Vol. 56. № 3. P. 739–747. doi: 10.3109/10428194.2014.929673

16. *Schallner N., Lieberum J.L., Gallo D. et al.* Carbon Monoxide Preserves Circadian Rhythm to Reduce the Severity of Subarachnoid Hemorrhage in Mice // Stroke. 2017. Vol. 48. № 9. P. 2565–2573. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.016165

17. *Sternberger L.A., Joseph S.A.* The unlabeled antibody method. Contrasting color staining of paired pituitary hormones without antibody removal // J. Histochem. Cytochem. 1979. Vol. 27. № 11. P. 1424–1429.

18. *Van Erum J., Van Dam D., De Deyn P.P.* Sleep and Alzheimer's disease: A pivotal role for the suprachiasmaticnucleus.) // Sleep Med. Rev. 2017. Vol. 28. pii: S1087-0792(17)30105-3. doi: 10.1016/j.smrv.2017.07.005

19. *Vineetha R.C., Binu P., Arathi P., Nair R.H.* L-ascorbic acid and α-tocopherol attenuate arsenic trioxide-induced toxicity in H9c2 cardiomyocytes by the activation of Nrf2 and Bcl2 transcription factors // Toxicol. Mech. Methods. 2018. Vol. 28. № 5. P. 353–360. doi: 10.1080/15376516.2017.1422578

20. *Zhou Y., Zhang H., Liu F. et al.* Altered Light Conditions Contribute to Abnormalities in Emotion and Cognition Through HINT1 Dysfunction in C57BL/6 Mice // Front. Behav. Neurosci. Vol. 12. P. 110. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00110

Поступила в редакцию 27.06.2019
После доработки 03.07.2019
Принята к публикации 08.07.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 915–922

L. K. Khuzhakhmetova [1], *D. L. Teply* [2], *E. D. Bazhanova* [2, 3, 4]

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF ALTERATIONS OF APOPTOSIS OF THE NEURONS OF THE HYPOTHALAMUS SUPRACHIASMATIC NUCLEUS AND PINEALOCYTES DURING AGING AND STRESS

[1] Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya str., Astrakhan 414000; [2] Astrakhan State University, 20a Tatishcheva str., Astrakhan 414040, e-mail: bazhanovae@mail.ru; [3] Institute of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, 1 Bekhtereva str., St. Petersburg 192019; [4] I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, 44 Toreza pr., St. Petersburg 194223

As is known, the pineal gland plays an important role in adaptogenesis, and the hypothalamus is one of the main links of the stress-reactive system and is involved in the regulation of the involution of the whole organism. So, the study of changes in these organs during stress and aging is very interesting. The aim of the work is to study the mechanisms of apoptosis of pinealocytes and neurosecretory cells of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus during aging, stress, and under the conditions of pharmacological correction of involutional processes and stress response (antioxidant alpha-tocopherol acetate, immunomodulator Cycloferon). We used Wistar rats as model, young (10–12 months) and old (24–30 months). Age-related features of the apoptosis dynamics of pinealocytes and neurosecretory cells of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus were studied using TUNEL and immunohistochemistry, and the possibilities of pharmacological correction of apoptotic processes are determined. An age-dependent increase of apoptosis level of cells of suprachiasmatic nucleus and epiphysis in rats was revealed. The stress effect (immobilization) led to the intensification of cell death, more significant in older animals. The pineal gland and suprachiasmatic nucleus, traditionally regarded as regulators of circadian rhythms, are at the same time actively involved in general adaptation processes. The studied drugs (α-tocopherol-acetate, Cycloferon, and their combination) have a pronounced anti-apoptotic, cytoprotective effect under physiological conditions during aging, as well as during non-specific emotional stress (immobilization) in young and old animals. The regulatory effect is accomplished by activating the expression of the anti-apoptotic protein *Bcl*-2 in the neurosecretory cells of the suprachiasmatic nucleus and pinealocytes.

Key words: *apoptosis, Bcl-2, aging, immobilization stress, suprachiasmatic nucleus, neurosecretory cells of hypothalamus, pineal gland, pinealocytes, rats*

© В. В. Ломако, 2019
УДК 612.112:612.67:612.017:599.323.4

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 923–929

В. В. Ломако

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У САМЦОВ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА*

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Украина, 61016, Харьков, ул. Переяславская, 23,
e-mail: victoria0regia@gmail.com

Изучали лейкоцитарные показатели крови у самцов аутбредных крыс пяти возрастных групп — 1,5; 6; 12; 18 и 24 мес. Контрольным был возраст 6 мес. С возрастом у крыс увеличивалось общее количество лейкоцитов (начиная с 12-месячного возраста), доля нейтрофилов (как палочко-, так и сегментоядерных), эозинофилов и моноцитов и уменьшалось количество лимфоцитов, появлялись (начиная с 18-месячного возраста) полихроматофильные и незрелые клетки, плазматизация цитоплазмы у отдельных лейкоцитов. У неполовозрелых 1,5-месячных крыс уменьшалась только доля эозинофилов (как и у 12-месячных) и общее количество лейкоцитов. Процесс перестройки отдельных звеньев иммунной системы в организме отражает динамика интегральных лейкоцитарных индексов. Возрастные изменения последних у крыс (начиная с 18-месячного возраста) свидетельствовали об усилении инфекционной интоксикации и воспалительного процесса, активации клеточного иммунитета и эффекторного звена, преобладании клеток неспецифической защиты (нейтрофилов) и их незрелых форм, об активации процессов гиперчувствительности замедленного типа, а также о снижении иммунореактивности и уровня адаптации организма. Индекс адаптации Гаркави самым низким был у 24-месячных крыс. Только у 1,5-месячных крыс повышалось количество микрофагоцитов, уровень аллергизации организма был самым низким, а интоксикации — самым высоким по сравнению с другими возрастными группами.

***Ключевые слова:** лейкоциты, иммунная система, возраст, крысы*

Старение организма — естественный физиологический процесс, который сопровождается закономерными, генетически детерминированными изменениями на всех уровнях организации, приводящими к нарушению гомеостаза и нарастанию дестабилизации жизненных функций. При старении организма происходит накопление повреждений в молекулах ДНК и снижается эффективность их самовосстановления, что приводит к общему ухудшению функционирования как генетического аппарата, так и клеток в целом. При этом количество тех или иных типов повреждений увеличивается и сильно варьирует с возрастом, в частности, у человека изучение лейкоцитов, являющихся достоверными маркерами состояния организма, показало пятикратные различия в способности к восстановлению ДНК [22]. Существует мнение, что лейкоциты, выполняя функцию борьбы с инфекциями, тем самым продлевают жизнь человека. Проведенные группой итальянских ученых исследования подтвердили [16], что подгруппа *B*-клеток может быть использована в качестве биомаркера продолжительности жизни и прогностической оценки антивозрастного лечения.

Поскольку каждый тип лейкоцитов крови выполняет определенную уникальную функцию (защитную, трофическую, триггерную, регуляторную, регенеративную и другие), их количественно-качественное соотношение в значительной степени отражает практически любые изменения в организме млекопитающих, выраженность которых зависит от уровня его реактивности. Полноценное физиологическое функционирование лейкоцитов крови способствует поддержанию иммунного гомеостаза, они участвуют в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунитета [6, 7].

Для более целостного представления о состоянии системы крови применяют интегральные лейкоцитарные индексы (ИЛИ), являющиеся достоверными диагностическо-прогностическими показателями, позволяющими также оценивать в динамике активность различных звеньев иммунной системы и уровень неспецифической резистентности организма, не прибегая к специальным методам исследования [10, 13].

Считается, что одной из основных причин старения является изменение активности иммунной системы, функциональная эффективность отдельных звеньев которой с возрастом снижается и/или на-

* Работа выполнена в рамках НИР: тема № 103, шифр 2.2.6.103, государственная регистрация № 0116U003493.

рушается, но в разной степени и с разной скоростью. Истощение иммунной системы может проявляться в уменьшении количества *Т*-лимфоцитов и нарушении преобразования *В*-лимфоцитов в продуцирующие антитела плазматические клетки. Такие проявления способствуют развитию аутоиммунных процессов (за счет активации патологических механизмов мимикрии) и онкологических заболеваний, а также сокращают продолжительность жизни [1, 17, 20, 21].

Несмотря на большое количество фундаментально-клинических исследований, свидетельствующих об истощении иммунной системы при старении, еще нет однозначных объяснений всех проявлений механизмов старения организма человека [1]. Необходимо дальнейшее выяснение ассоциативных связей определенных параметров иммунных процессов при старении.

Цель работы — сравнительное изучение соотношения типов лейкоцитов крови и динамики ИЛИ у самцов крыс разного возраста.

Материалы и методы

Работа выполнена на самцах белых беспородных аутбредных крыс (*Rattus norvegicus*) разного возраста (1,5; 6; 12; 18 и 24 мес), которые получены методом стадной рандомбредной системы разведения и до начала эксперимента содержались в условиях вивария ИПКиК НАНУ при естественном световом режиме на стандартном рационе *ad libitum*. В эксперимент отбирали интактных животных из разных пометов, достигших оцениваемого возраста, у которых контролировали состояние шерсти, кожных покровов, глаз, соответствие массы тела и размера возрасту. Кровь для анализа получали при одновременном комплексном заборе биоматериала для биохимических, гистологических и других исследований после декапитации животных. Эксперименты проведены в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными VI Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2016) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Количественно-качественную оценку типов лейкоцитов осуществляли в мазках крови, обработанных фиксатором Май—Грюнвальда и окрашенных гематологическим красителем по Романовскому. Брали по два мазка крови у каждого животного (значения усредняли). Общее количество лейкоцитов оценивали в камере Горяева. Кровь не стабилизировали. Лизис эритроцитов осуществляли 5 % раствором уксусной кислоты, подкрашенным метиленовым синим. Далее рассчитывали следующие ИЛИ [8, 10, 12, 13]. Индекс ядерного сдвига — ИЯС=(Ми+Ю+П)/С — определяет соотношение молодых и зрелых форм нейтрофилов. Лейкоцитарный индекс — ЛИ=Л/Н — отражает соотношение гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. Лейкоцитарный индекс интоксикации Кальф—Калифа: ЛИИ=(4Ми+3Ю+2П+С)·(Пл+1)/(Л+М)х(Э+1) — характеризует уровень эндогенной интоксикации и активизации процессов тканевого распада. Повышение индекса сдвига лейкоцитов — ИСЛ=(Э+Б+С+П)/(Л+М) — свидетельствует об активном воспалительном процессе и нарушении иммунореактивности. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс — ЛГИ=10Л/(Ми+Ю+П+С+Э+Б) — позволяет дифференцировать ауто- и инфекционную интоксикацию. Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов — ИСНЛ=(П+С)/Л — отражает взаимоотношение клеток неспецифической и специфической защиты. Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов — ИСЛЭ=Л/Э — отражает соотношение процессов гиперчувствительности немедленного и замедленного типа. Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов — ИСНМ=Н/М — характеризует взаимосвязь компонентов микрофагальной и макрофагальной системы. Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов — ИСЛМ=Л/М — оценивает взаимоотношение аффекторного и эффекторного звеньев иммунного процесса. Рассчитывали также индексы адаптации Гаркави (ИАГ=Л/С), аллергизации [ИА=(Л+1)–(Э+1)/(П+С+М)] и иммунореактивности [ИИР=(Л+Э)/М]. Сокращения в приведенных формулах означают типы клеток: П — палочко- и С — сегментоядерные лейкоциты; Л — лимфоциты; М — моноциты; Н — нейтрофилы; Э — эозинофилы; Б — базофилы; Ми — миелоциты; Ю — юные формы (метамиелоциты); Пл — плазматические клетки (содержание в процентах).

Статистическую обработку проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием программного обеспечения Excel (Microsoft, США).

Результаты и обсуждение

При сравнении лейкоцитарных показателей у крыс разного возраста, контрольной группой служили половозрелые животные 6-месячного возраста. Анализ полученных результатов показал, что при старении у крыс общее количество лейкоцитов в крови увеличивалось, начиная с 12-месячного возраста (на 12,7; 12,3 и 35,4 % у 12-, 18- и 24-месячных животных соответственно). У неполовозрелых 1,5-месячных крыс отмечали самые низкие значения общего количества лейкоцитов (89 % от контрольного уровня), *табл. 1*.

Физиологический лейкоцитоз и временный лейкоцитоз могут быть связаны с влиянием внешних факторов: стресса, тяжелой физической нагрузки, изменения рациона, смены часовых поясов и даже перемены погоды [6, 7]. Однако доказано, что лейкоцитоз может быть таким же независимым фактором риска развития ИБС, как артериальная гипертензия, уровень общего холестерина и сахарный диабет [5]. Следует отметить, что в работе [14], проведенной на крысах линии *Sprague-Dawley* разного возраста (возрастные группы <6, 6–18 и 18–32 мес), по мере старения изменений общего количества лейкоцитов в крови не наблюдали.

Доля палочкоядерных клеток снижалась на 37 % только у крыс 12 мес. Палочкоядерные нейтрофилы — это незрелые формы нейтрофилов, при уменьшении количества которых в крови ухудшается работа иммунной системы и устойчивость к инфекциям либо понижается лейкопоэтическая активность костного мозга. Доля сегментоядерных нейтрофилов повышалась на 12 % у старых крыс по сравнению с 6-месячными, у 1,5-месячных — не отличалась. Увеличение количества сегментоядерных клеток может указывать на физиологические изменения, связанные со стрессом, развитием инфекции, интоксикации, а также онкологических заболеваний. Количество лимфоцитов у 18- и 24-месячных крыс снижалось на 14,2 и 17,3 % соответственно, у 12-месячных — напротив, повысилось на 6 %, у 1,5-месячных — не отличалось (см. табл. 1).

В работах, проведенных на крысах разного возраста (группы <6, 6–18 и 18–32 мес [14] и 3, 19 и 23 мес [19]), также по мере старения в крови животных наблюдали уменьшение количества лимфоцитов и повышение уровня нейтрофилов. Уменьшение количества лимфоцитов на фоне увеличения сегментоядерных нейротрофилов может определяться физиологическими изменениями в организме, обусловленными перенапряжением и стрессом. Кроме того, количество лимфоцитов может уменьшаться при старении. Следует также отметить, что популяция лимфоцитов подразделяется на два подтипа — с коротким (активно делятся) и длительным (отвечают за иммунную «память») сроком жизни [6, 7], соотношение которых в крови, возможно, изменяется при старении.

Количество эозинофилов у 1,5- и 12-месячных крыс было меньше в 3,5 и 2,1 раза соответственно, а у 18- и 24-месячных — напротив, больше в 1,97 и 2,3 раза соответственно по сравнению с контрольной группой. При этом эозинофилы у 1,5-месячных крыс были снижены на фоне легкой лейкопении, а у 12-месячных — лейкоцитоза (см. табл. 1). Специфическими функциями эозино-

Таблица 1

Лейкоцитарный состав крови у самцов крыс разного возраста, *M±SE*

Показатель	Возраст, мес				
	1,5, *n*=6	6, *n*=15	12, *n*=6	18, *n*=8	24, *n*=6
Общее количество лейкоцитов в крови, 10^9/л	5,8±0,3$^{1)*,3)*,4)*,5)*}$	6,5±0,1$^{1)*,3)*,4)*,5)*}$	7,3±0,4^{125}	7,3±0,6^{125}	8,8±0,8^{1234}
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2±0,4	1,9±0,4$^{3)*}$	1,2±0,2$^{1)*,2)*,4)*,5)*}$	2,5±0,5$^{3)*}$	2,7±0,8$^{3)*}$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	28,5±0,9$^{4)*,5)*}$	27,1±1,5$^{4)*,5)*}$	26,5±1,4$^{4)*,5)*}$	32,6±2$^{1)*,2)*,3)*}$	32,8±1,8$^{1)*,2)*,3)*}$
Эозинофилы, %	1±0,3$^{1)*,4)*,5)*}$	3,5±0,7$^{1)*,3)*,4)*,5)*}$	1,7±0,3$^{1)*,2)*,4)*,5)*}$	6,9±0,7$^{1)*,2)*,3)*}$	8,2±2,1$^{1)*,2)*,3)*}$
Лимфоциты, %	67,2±1$^{4)*,5)*}$	65,5±1,3^{345}	69,5±1,5$^{4)*,5)*}$	56,2±4,8$^{1)*,3)*}$	54,2±3$^{1)*,3)*}$
Моноциты, %	1,2±0,2$^{4)*,5)*}$	1,3±0,2$^{4)*,5)*}$	1,2±0,2$^{4)*,5)*}$	2,4±0,4$^{1)*,2)*,3)*}$	1,8±0,2$^{1)*,2)*,3)*}$
Юные клетки (метамиелоциты)	–	–	–	1:100	1:100

Примечание. Здесь и в табл. 2: $^{1)*}$ различия статистически значимы по сравнению с 6-месячными крысами; $^{2)*}$ различия статистически значимы по сравнению с 1,5-месячными крысами; $^{3)*}$ различия статистически значимы по сравнению с 12-месячными крысами; $^{4)*}$ различия статистически значимы по сравнению с 18-месячными крысами; $^{5)*}$ различия статистически значимы по сравнению с 24-месячными крысами; $p<0,05$.

филов являются антипаразитарная и антиаллергическая. Эозинофилию наблюдают при паразитарных, аллергических и инфекционных заболеваниях, коллагенозе, эндокринопатии, при заболеваниях системы крови. Эозинопения может быть следствием угнетения работы костного мозга, активации инфекционных и воспалительных процессов, усиления работы надпочечников и активации синтеза глюкокортикоидов и др. [6, 7].

С возрастом у крыс отмечали повышение количества моноцитов в крови — у 18- и 24-месячных на 82,3 и 40,8 % соответственно. У 1,5- и 12-месячных оно не отличалось от показателей у 6-месячных крыс (см. табл. 1). Известно, что моноциты участвуют в регуляции многих процессов: формировании иммунной памяти и специфического иммунитета; уничтожении погибших клеток в области воспаления, чем способствуют регенерации тканей в месте повреждения; осуществляют противоопухолевый эффект, выработку интерферона и др. [3, 6]. Увеличение количества моноцитов в крови может обусловливаться активацией механизмов, противодействующих развитию патологических процессов и/или изменений, сопутствующих физиологическому старению.

К особенностям изменения лейкоцитарного состава крови относят уравнивание количества лимфоцитов и нейтрофилов в определенные возрастные периоды, так называемый «физиологический перекрест» лейкоцитарной формулы крови. У человека он отмечается на 4-е сутки после рождения и в возрасте 4 лет, а по мере взросления окончательно устанавливается нейтрофильный профиль крови [3]. Сроки наступления «физиологического перекреста» у других видов млекопитающих с разной продолжительностью жизни и особенностями онтогенеза могут различаться [8]. У крыс (как и у хомяков, и мышей) лимфоцитарный профиль крови, поэтому абсолютное количество лимфоцитов в крови у них высокое. У самых старых крыс (24 мес) среди изученных нами возрастных групп хоть и увеличивалось количество нейтрофилов (с 29 до 35,5 %) на фоне снижения лимфоцитов (с 65,5 до 54 %), «перекреста» не происходило. Можно предположить, что такое явление либо не характерно для этого вида животных, либо оно вероятно в более позднем возрасте, поскольку у некоторых линий лабораторных крыс продолжительность жизни составляет более 3 лет. Повышение же относительного количества лимфоцитов связывают с интенсивной пролиферацией лимфоидных клеток в процессе развития специфического иммунитета.

В работе С. В. Морякиной и соавт. [9] показана направленность изменения соотношения типов лейкоцитов в крови при старении у людей. При сравнении отмеченной авторами тенденции с таковой у крыс мы выявили следующие особенности. Так, у людей отмечается увеличение доли палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов и уменьшение лимфоцитов [9] (как и у крыс), но на фоне уменьшения количества сегментоядерных нейтрофилов и общей концентрации лейкоцитов (у крыс, напротив, происходило увеличение), см. табл. 1.

Кроме того, у крыс в мазках крови мы наблюдали полихроматофильные и юные (миелоциты) клетки (1:100), начиная с 18-месячного возраста, а также плазматизацию цитоплазмы у некоторых лейкоцитов только у 24-месячных крыс (данные в таблице не приведены). Появление незрелых форм лейкоцитов в крови обусловлено нарушением их созревания в кроветворной ткани, повышением проницаемости костномозгового барьера и/или усилением их продукции [6, 7]. Полихроматофилию отмечают у незрелых эритроцитов, когда цитоплазма клетки вследствие неполного насыщения ее гемоглобином окрашивается кислыми и основными красителями одновременно; характерна для гемолитической анемии и является показателем как усиления регенераторной и эритропоэтической функций костного мозга, когда оно временное и сопровождается нарастанием количества эритроцитов, так и их недостаточности. Плазматизацию цитоплазмы наблюдают у незрелых лейкоцитов, не способных продуцировать антитела; выход таких клеток в кровоток из кроветворной ткани и лимфатических узлов является следствием сбоя в работе иммунной системы, а также определяется реактивным ответом системы на стресс. Появление в крови юных клеток на фоне увеличения количества палочкоядерных форм нейтрофилов (так называемый сдвиг лейкоцитарной формулы влево) свидетельствует о наличии патологического процесса в организме и сопровождается усилением гемопоэза и выходом в кровь молодых форм клеток. Повышение доли сегментоядерных клеток в сочетании с появлением незрелых форм лейкоцитов (Ми и Ю) на фоне невыраженного лейкоцитоза при неизмененном количестве палочкоядерных клеток (наблюдали у старых 18- и 24-месячных крыс) характеризует регенеративный сдвиг лейкоцитарной формулы [3, 6] либо свидетельствует о ее разбалансировке у крыс при старении.

Далее были рассчитаны ИЛИ, позволяющие оценить состояние некоторых звеньев иммунитета

(*табл. 2*). Так, из двенадцати изученных ИЛИ значения трех (ИА, ИСНМ и ЛИИ) изменялись только у 1,5-месячных крыс, то есть уровень аллергизации организма у них был самым низким, в крови преобладали компоненты микрофагальной системы, а уровень интоксикации был самым высоким. Однако увеличение ЛИИ у 1,5-месячных крыс может быть не связано с инфекцией, а обусловлено активацией процессов гемопоэза [8].

Индекс, отражающий взаимоотношение аффекторного и эффекторного звеньев иммунного процесса (ИСЛМ), у 1,5- и 12-месячных крыс повышался (преобладание аффекторного звена), у 18- и 24-месячных, напротив, уменьшался (активация эффекторного звена — конечного повреждающего звена иммунитета). Эффекторным звеном гуморального иммунитета является синтез нейтрализующих антител, а клеточного — фагоцитоз. Повышение ИСНЛ — индекса, определяющего соотношение клеток неспецифической и специфической защиты, — наблюдали только у старых (18- и 24-месячных) крыс, то есть имело место преобладание неспецифических клеток (см. табл. 2). Неспецифическую резистентность организма обеспечивают доиммунные биологические механизмы (*innate immunity*): кининовая система, система комплемента, фагоциты, нейтрофилы и естественные (*natural*) киллеры — лимфоциты, обладающие цитотоксической активностью. Возрастание ИСНЛ может служить неблагоприятным фактором, однако единого мнения относительно его градации для стратификации риска осложнений у пациентов, в том числе и летального исхода, не существует [2, 18].

Нейтрофилез, лимфопения и увеличение доли нейтрофилов по отношению к лимфоцитам (ИСНЛ) являются наиболее чувствительными показателями острого стресса у позвоночных животных [12]. Такой комплекс изменений в наших исследованиях отмечали у старых 18- и 24-месячных крыс (см. табл. 1, 2).

У старых крыс также отмечали снижение ЛГИ, свидетельствующее об усилении у них инфекционной интоксикации. Повышение ИЯС (характеризует соотношение всех молодых и зрелых форм нейтрофилов), наблюдаемое у 18-месячных крыс, указывает на нарушение способности нейтрофилов элиминировать антиген (в связи с преобладанием молодых, функционально неполноценных форм), см. табл. 2.

Лейкоцитарный индекс (ЛИ), отражающий взаимоотношение клеточного и гуморального иммунитета [10, 13], снижался только у самых старых из изученных возрастных групп крыс — 24-ме-

Таблица 2

Интегральные лейкоцитарные индексы у самцов крыс разного возраста, *M±SE*

Показатель	Возраст, мес				
	1,5	6	12	18	24
Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ)	28,0±2,77[5)]*	23,6±2,4	25,67±2,97	20,6±5,7	20,67±3,06[2)]*
Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ)	61,58±8,68[4)*,5)]*	54,2±1,9[3)*,4)*,5)]*	63,42±5,46[2)*,4)*,5)]*	28,5±5,5[1)*,2)*,3)]*	32,17±5,92[1)*,2)*,3)]*
Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ЛГИ)	21,49±1,08[4)*,5)]*	20,9±1,3[3)*,5)]*	24,0±1,41[1)*,4)*,5)]*	16,4±3,7[2)*,3)]*	12,77±1,4[1)*,2)*,3)*,4)]*
Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ)	0,45±0,02[4)*,5)]*	0,44±0,04[4)*,5)]*	0,4±0,03[4)*,5)]*	0,71±0,15[1)*,2)*,3)]*	0,67±0,08[1)*,2)*,3)]*
Индекс аллергизации (ИА)	2,77±0,15[1)*,3)*,4)*,5)]*	3,9±0,45[2)]*	3,38±0,26[2)]*	4,41±0,99[2)]*	3,99±0,58[2)]*
Индекс ядерного сдвига (ИЯС)	0,11±0,02[4)]*	0,08±0,01[4)*,5)]*	0,09±0,01[4)]*	0,21±0,06[1)*,2)*,3)*,5)]*	0,12±0,01[1)*,3)*,4)]*
Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ)	46,2±7,62[1)*,4)*,5)]*	31,07±6,642[2)*,3)*,4)*,5)]*	49,94±8,6[1)*,4)*,5)]*	9,21±1,24[1)*,2)*,3)]*	12,92±5,12[1)*,2)*,3)]*
Индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ)	0,46±0,02[4)*,5)]*	0,49±0,03[4)*,5)]*	0,42±0,03[4)*,5)]*	0,79±0,15[1)*,2)*,3)]*	0,81±0,11[1)*,2)*,3)]*
Индекс адаптации Гаркави (ИАГ)	2,37±0,11[5)]*	2,57±0,11[5)]*	2,66±0,17[5)]*	2,44±0,75	1,7±0,17[1)*,2)*,3)*,4)]*
Лейкоцитарный индекс (ЛИ)	2,22±0,11[1)*,5)]*	2,54±0,1[2)*,5)]*	2,55±0,16[5)]*	2,37±0,6[5)]*	1,56±0,17[1)*,2)*,3)*,4)]*
Лейкоцитарный индекс интоксикации Кальф—Калифа (ЛИИ)	0,26±0,05[1)*,3)*,4)*,5)]*	0,15±0,03[2)]*	0,17±0,02[2)*,5)]*	0,12±0,03	0,09±0,03[1)*,3)]*
Индекс иммунореактивности (ИИР)	62,5±5,79[4)*,5)]*	59,5±5,82[4)*,5)]*	65,0±5,72[4)*,5)]*	31,92±5,56[1)*,2)*,3)]*	35,67±5,67[1)*,2)*,3)]*

сячных, что указывает на преобладание у них клеточного звена иммунитета. Индекс, отражающий соотношение процессов гиперчувствительности немедленного и замедленного типа (ИСЛЭ), существенно (практически в 3 раза) снижался у старых крыс (то есть преобладали процессы замедленного типа), у 1,5- и 12-месячных, напротив, он повышался (преобладали реакции немедленного типа). Кроме того, только у старых крыс отмечали повышение ИСЛ, указывающее на активный воспалительный процесс и нарушение иммунореактивности [10, 13], что также подтверждалось значительным (почти в 2 раза) снижением у них индекса иммунореактивности (ИИР), а также индекса адаптации Гаркави у 24-месячных животных (см. табл. 2).

Старение иммунной системы считается основным фактором, способствующим увеличению частоты заболеваемости и смертности у пожилых людей, и включает не только связанные с возрастом изменения самих иммунных клеток и их микроокружения, но также и системные изменения [16, 17]. Кроме того, при старении иммунной системы проявляется парадоксальная ситуация: на фоне иммунодефицита активируется врожденный иммунитет и склонность к развитию хронического воспаления [11]. К тому же показано, что инфекционные болезни, перенесенные в детском возрасте, могут определять уровень воспалительных процессов во взрослом организме, а также влиять на продолжительность жизни [15, 17].

Таким образом, показатели лейкоцитов крови у крыс при старении меняются в сторону увеличения общего их количества (начиная с 12-месячного возраста), доли нейтрофилов (как палочко-, так и сегментоядерных клеток), эозинофилов и моноцитов и уменьшения доли лимфоцитов (начиная с 18-месячного возраста). Изменения ИЛИ отражают особенности перестройки отдельных звеньев иммунной системы: происходит усиление инфекционной интоксикации и воспалительного процесса, активация эффекторного и клеточного звеньев иммунитета, преобладание клеток неспецифической защиты (нейтрофилов) и их незрелых форм, усиление процессов гиперчувствительности замедленного типа, снижение уровня иммунореактивности и адаптации организма.

Итак, нарушения нормального функционирования системы иммунитета в процессе старения организма могут происходить в различных направлениях — как в сторону снижения, так и усиления активности ее различных звеньев, а также дискоординации между ее структурными компонентами. Может обнаруживаться несоответствие направленности изменений взаимосвязанных иммунных показателей (синдром диссоциации). Необходимо также учитывать роль иммунных механизмов в формировании патологических состояний, синдрома полиорганных нарушений и др. Сложность однозначного понимания этих процессов связана с тем, что иммунитет — многоуровневая гомеостатическая система, обладающая мощными компенсаторными свойствами, которую сложно дестабилизировать. Чем сложнее система, тем устойчивее она к действию экзогенных факторов, но тем драматичней для организма проявляются эндогенные «ошибки» ее функционирования [4]. Так, связанная с возрастом иммунная дисфункция, также называемая «иммунным старением», проявляется в повышенной восприимчивости к инфекциям, увеличении опасности возникновения и прогрессирования аутоиммунных заболеваний и неоплазии.

Учитывая роль иммунной системы в борьбе с инфекциями, уровень ее активности при старении, по мнению S. Ponnappan и соавт. [21], может служить маркером здоровья и предиктором долголетия. Понимание механизмов, лежащих в основе иммунного старения, позволит выработать эффективные стратегии, направленные на улучшение состояния здоровья стареющих людей

Выводы

С возрастом у крыс наблюдают лейкоцитоз (начиная с 12-месячного возраста), увеличение доли нейтрофилов (как палочко-, так и сегментоядерных форм), эозинофилов и моноцитов и уменьшение доли лимфоцитов (начиная с 18-месячного возраста). У неполовозрелых 1,5-месячных крыс наблюдают только лейко- и эозинопению (и у 12-месячных). Расчет интегральных лейкоцитарных индексов указывает на усиление в организме крыс с возрастом (начиная с 18-месячного возраста) инфекционной интоксикации и воспалительного процесса, активацию эффекторного и клеточного звеньев иммунитета, преобладание клеток неспецифической защиты (нейтрофилов) и их незрелых форм, усиление процессов гиперчувствительности замедленного типа, снижение иммунореактивности и уровня адаптации организма.

Автор благодарит старшего научного сотрудника канд. биол. наук А. В. Шило (ИПКиК НАНУ, Харьков, Украина) и зав. клинической лабораторией врача высшей категории Л. Н. Пироженко (КНП «Люботинская городская больница», ЛГСХО, Люботин, Украина) за методическую и консультативную помощь.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. Т. 1. СПб.: Наука, 2008.

2. *Бахчоян М.Р., Космачева Е.Д., Славинский А.А.* Индекс соотношения нейтрофилов к лимфоцитам как предикторов неблагоприятного прогноза у пациентов с сердечной недостаточностью некоронарогенной этиологии // Клин. практика. 2017. № 3. С. 48–52.

3. *Бобова Л.П., Кузнецов С.Л., Сапрыкин В.П.* Гистофизиология крови и органов кроветворения и иммуногенеза. М.: Новая волна, 2003.

4. *Войтенко В.П., Писарук А.В.* Системные предпосылки старения // Изв. РАН (серия «Биологическая»). 1992. № 4. С. 629–631.

5. *Гавришева Н.А., Алексеева Г.В., Бойко А.И., Панов А.В.* Множественная роль лейкоцитов при ишемической болезни сердца // Рос. кардиол. журн. 2017. Т. 151. № 11. С. 86–92. http:// dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2017-11-86-92

6. *Гематология:* Новейший справочник / Под ред. К.М. Абдулкадырова. М.: ЭКСМО, 2004.

7. *Долгушин И.И., Бухарин О.В.* Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: УрО РАН, 2001.

8. *Кавцевич Н.Н., Минзюк Т.В.* Лейкоцитарные индексы и активность организаторов ядрышка лимфоцитов крови щенков серых тюленей // Вестн. Южного НЦ РАН. 2010. Т. 6. № 4. С. 76–83.

9. *Морякина С.В., Анзоров В.А., Абумуслимов С.С., Элибаева М.А.* Возрастные изменения белых клеток крови и лейкоцитарной формулы у жителей Чеченской Республики // Потенциал соврем. науки. 2016. Т. 1. № 18. С. 24–31.

10. *Мустафина Ж.Г., Крамаренко Ю.С., Кобцева В.Ю.* Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных с офтальмопатологией // Клин. лаб. диагностика. 1999. № 5. С. 46–48.

11. *Парахонский А.П.* Старение иммунной системы // Междунар. журн. прикладных и фундам. исследований. 2011. № 6. С. 73–74.

12. *Романова Е.Б., Шаповалова К.В., Рябинина Е.С., Гелашвили Д.Б.* Лейкоцитарные индексы и микроядра в эритроцитах как популяционные маркеры иммунного статуса Pelophylax ridibundus (Pallas, 1771) (Amphibia ranidae), обитающих в различных биотопических условиях // Поволжский экол. журн. 2018. № 1. С. 60–75.

13. *Сперанский И.И., Самойленко Г.Е., Лобачева М.В.* Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения // Здоровье Украины. 2009. Т. 19. № 6. С. 51–57.

14. *Alemán C.L., Más R.M., Rodeiro I. et al.* Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months // Lab. Anim. 1998. Vol. 32. № 4. P. 457–466. doi: 10.1258/002367798780599802

15. *Blackwell D., Hayward M., Crimmins E.M.* Does childhood health affect chronic morbidity in later life? // Soc. Sci. Med. 2001. Vol. 52. P. 1269–1284.

16. *Colonna-Romano G., Buffa S., Bulati M. et al.* B cells compartment in centenarian offspring and old people // Curr. Pharm. Des. 2010. Vol. 16. № 6. P. 604–608.

17. *Crimmins E.M., Finch C.E.* Infection, inflammation, height, and longevity // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103. P. 498–503.

18. *Dong C.H., Wang Z.M., Chen S.Y.* Neutrophil to lymphocyte ratio predict mortality and major adverse cardiac events in acute coronary syndrome: A systematic review and meta-analysis // Clin. Biochem. 2018. Vol. 52. Feb. P. 131–136. doi: 10.1016/j.clinbiochem. 2017.11.008. Epub 2017 Nov 11

19. *Kolosova N.G., Stefanova N.A., Muraleva N.A., Skulachev V.P.* The mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 but not N-acetylcysteine reverses aging-related biomarkers in rats // Aging. 2012. Vol. 4. Iss. 10. P. 686–694. https://doi.org/10.18632/aging.100493

20. *Miller R.* Aging and immune function // In: Fundamental Immunology, 4th ed. (Ed. W.E. Paul). Philadelphia: Lippincott-Raven Publ., 1999. P. 965–974.

21. *Ponnappan S., Ponnappan U.* Aging and immune function: molecular mechanisms to interventions // Antioxid. Redox Signal. 2011. Vol. 14. № 8. P. 1551–1585. doi: 10.1089/ars.2010.3228. Epub 2011 Jan 8

22. *Velegzhaninov I., Mezenceva V., Shostal O. et al.* Age dynamics of DNA damage and CpG methylation in the peripheral blood leukocytes of mice // Mutat. Res. 2015. Vol. 775. P. 38–42. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2015.03.006. Epub 2015 Mar 28

Поступила в редакцию 01.08.2019
После доработки 05.09.2019
Принята к публикации 10.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 923–929

V. V. Lomako

BLOOD LEUKOCYTE INDICES IN MALE RATS OF DIFFERENT AGES

Institute of Problems for Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine, 23 Pereyaslavskaya, Kharkov 61016, Ukraine, e-mail: victoria0regia@gmail.com

Blood leukocyte indices were studied in outbred male of rats of five age groups — 1,5; 6, 12, 18 and 24 months. Six month's old rats were served as the control. The increase in age in rats was accompanied by an increase of total leukocyte count (starting from the 12-month-old), in the percentage of neutrophils (both banded and segmented), eosinophils and monocytes as well as by a decrease in the number of lymphocytes, the appearance (starting from the 18-month-old) of polychromatophilic and immature cells, and cytoplasm plasmatization in some leukocytes. In immature 1,5-month-old rats, only the percentage of eosinophils (as in 12-month-old rats) and the total number of leukocytes changed (decreased). The process of restructuring of the immune system altered links in body reflected the dynamics of integral leukocyte indices (ILI). Changes in ILI at increase in age (starting from 18 months of age) indicated an increase in infectious intoxication and inflammation, activation of cellular immunity and effector link, the prevalence of non-specific protection cells (neutrophils) and their immature forms, as well as a delayed type of hypersensitivity, decrease in immunoreactivity and level of adaptation of the body. The lowest Garkavi adaptation index was in 24-month-old rats. Only in 1,5-month-old rats, the microphagocytes increased in the blood, as well as the body level of allergization was the lowest and the level of intoxication level was the highest compared to the other studied age groups.

Key words*: leukocytes, immune system, age, rats*

© В. В. Никель, В. П. Ефремова, 2019
УДК 611.018.2.068

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 930–934

В. В. Никель, В. П. Ефремова

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ПАРАВАЗАЛЬНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого,
660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1, e-mail: vica-nic@mail.ru

Целью работы стало изучение возрастной изменчивости пролиферативной активности фибробластов паравазальной соединительной ткани полых и паренхиматозных органов у трупов мужчин первого периода зрелого возраста, пожилого и старческого возраста путем выявления экспрессии белка *Ki*-67 (клон *MIB*-1) и расчета индекса пролиферации. Результаты показали, что в первом периоде зрелого возраста индекс пролиферации находится практически на одном уровне в клетках паравазальной ткани как паренхиматозных, так и полых органов пищеварительного тракта. Фибробласты паравазальной ткани сердца обладают наименьшей активностью пролиферации среди всех изучаемых органов. С возрастом интенсивность клеточной пролиферации снижается, кроме того, в возрасте старше 75 лет выявляется четко выраженная органная специфичность. В клетках паравазальной ткани паренхиматозных органов индекс характеризуется минимальными значениями среди всех изучаемых органов. Клетки паравазальной ткани полых органов сохраняют значительно большую пролиферативную активность в старческом возрасте, которая практически в 2 раза превосходит аналогичный параметр паренхиматозных органов в данной возрастной группе.

***Ключевые слова:** паравазальная соединительная ткань, полые органы, паренхиматозные органы, фибробласты, индекс пролиферации, первый период зрелого возраста, пожилой возраст, старческий возраст*

Органная специфичность соединительной ткани, по мнению ряда авторов [2, 9, 18], — это особенность ее метаболизма, реактивных проявлений и взаимоотношений с паренхимой. Во многих органах эти отношения носят характер гематопаренхиматозных барьеров, строение которых поддается точным математическим измерениям, что дает возможность изучения органной специфики соединительной ткани именно на уровне тонких структурных взаимоотношений ее с паренхимой [3, 4, 13, 15]

Знание состояния взаимодействия стромы и паренхимы необходимо для изучения надежности каждого компонента. При оценке параметров надежности наиболее лимитирующей составляющей является соединительнотканная часть органа. Следовательно, нарушение адаптации, приводящее к развитию патологических процессов, закономерно будет связано с нарушением структуры органа [11, 12, 17].

Фибробласты являются основной и наиболее распространенной клеточной формой соединительной ткани. В комплексе с волокнистыми компонентами фибробласты определяют также пространственную структуру (архитектонику) соединительной ткани [6, 14, 16]. Исходя из этого, одной из важных составляющих изучения соединительнотканного компонента органа является исследование особенности пролиферации данных клеточных форм в различные возрастные периоды.

Паравазальная соединительная ткань была впервые выделена как самостоятельная морфологическая единица Т. Д. Никитиной [10] как структура, располагающаяся в непосредственной близости от кровеносного сосуда. Позже было установлено, что она принимает непосредственное участие в формировании гемодинамических условий в органе [7, 8].

Учитывая все вышеизложенное, целью нашего исследования стало изучение возрастной изменчивости пролиферативной активности фибробластов паравазальной соединительной ткани полых и паренхиматозных органов у трупов мужчин первого периода зрелого возраста, пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы

Для исследования производили забор внутренних органов (сердце, желудок, подвздошная кишка, легкие, почки) от 80 трупов мужчин трех

возрастных групп, скончавшихся от насильственной и ненасильственной смерти с быстрым темпом умирания, при обязательном условии — смерть не связана с заболеваниями исследуемых органов. Забор органов производили не позднее 24 ч после констатации факта смерти.

Весь материал соответственно классификации возрастной периодизации, предложенной Институтом возрастной физиологии АПН СССР (1965 г.), был разделен на соответствующие группы: 20 трупов — 1-й период зрелого возраста (22—35 лет), по 30 трупов — пожилой (61—74 года) и старческий (75—89 лет) возраст.

Все исследования выполнены с соблюдением этических принципов (протокол № 24/2010 заседания локального этического комитета ГОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» от 14.05.2010 г.).

Идентификацию клеток паравазальной соединительной ткани, находящихся в состоянии пролиферации, проводили путем выявления экспрессии белка *Ki*-67 (клон *MIB*-1), который является наиболее четким и специфичным маркером пролиферации. При исследовании использовали систему визуализации «DAKO REAL Detection System Peroxidase/DAB + Rabbit/Mouse» (DAKO, Дания).

Исследование проводили согласно стандартному протоколу фирмы производителя антител («DAKO», Дания).

При микроскопии [ув. 400, микроскоп «Люмам Р8», видеосистема для анализа изображений «Nikon Coolpix 4500», или ув. 1000, микроскоп «Olympus CX41» с видеокамерой «Olympus DP71» («Olympus», Япония)] регистрировали клетки, осуществляющие экспрессию белка *Ki*-67 (клон *MIB*-1). Подсчет количества *Ki*-67-позитивных клеток производили на 100—300 клетках при анализе не менее 10 полей зрения.

В результате определяли индекс пролиферации (ИП) по формуле:

$$\text{ИП} = \frac{\text{Количество Ki-67}^{+}\text{-клеток}}{\text{Общее количество клеток}} \cdot 100\,\%.$$

Для выявления адекватной работы системы визуализации, специфичности положительного окрашивания и для проверки соблюдения методической последовательности использовали положительные и отрицательные контроли.

Для определения корректной работы антител исследовали положительные контроли, в которых окрашивали ткань, заведомо содержащую исследуемые антигены.

Для отрицательного контроля использовали срезы тканей изучаемых органов, в которых при проведении ИГХ-реакции была исключена инкубация с первичными антителами, на них наносили только дилюент [5].

Для оценки межгрупповых различий распределения относительных долей индекса пролиферации применяли непараметрический критерий χ^2. После расчета данного критерия по стандартным таблицам находили критическое значение χ^2 с учетом количества степеней свободы, отдельно для каждой группы сравниваемых признаков. Если полученное эмпирическое значение χ^2 было больше критического, различия признавали статистически значимыми [1].

Кроме того, в результате исследования на основе уравнений экспоненциальной регрессии были разработаны регрессионные модели зависимости ИП клеток паравазальной соединительной ткани от возраста мужчин.

Данное уравнение имеет вид: $y=a \cdot e^{b \cdot x}$, где y — искомое значение ИП (%); x — возраст обследуемого; a — коэффициент экспоненциальной регрессии; b — свободный член; e — число Эйлера (основание натурального логарифма, равное 2,718).

Результаты и обсуждение

В результате установлено, что в первом периоде зрелого возраста в клетках паравазальной соединительной ткани уровень пролиферации достаточно высокий и примерно одинаков для всех изученных полых и паренхиматозных органов. Исключением из этой общей тенденции является паравазальная соединительная ткань сердца, в которой ИП в данной возрастной группе достоверно наименьший и составляет 33,6 %±0,78 (χ^2=8,91).

С возрастом установлено постепенное снижение количества клеток, осуществляющих экспрессию белка *Ki*-67 и, как следствие, находящихся в состоянии пролиферации. В частности, паравазальная соединительная ткань легких, сердца, стенки желудка и стенки подвздошной кишки характеризуется практически одинаковым процентным содержанием *Ki*-67-позитивных клеток в возрасте старше 60 лет, и различий между полыми и паренхиматозными органами не обнаружено (*таблица*).

Количество *Ki*-67-позитивных клеток в структуре паравазальной соединительной ткани полых и паренхиматозных органов, %

Орган	Первый период зрелого возраста, *n*=20	Пожилой возраст, *n*=30	Старческий возраст, *n*=30
	1	2	3
Легкие, *n*=80	43,57±0,42	23,55±1,69	10,09±0,24
	χ^2_{1-2}=14,93 (*p*<0,01); χ^2_{1-3}=44,44 (*p*<0,01); χ^2_{2-3}=9,63 (*p*<0,01)		
Почки, *n*=80	48,94±1,98	15,18±1,07	10,35±0,73
	χ^2_{1-2}=46,42 (*p*<0,01); χ^2_{1-3}=64,69 (*p*<0,01); χ^2_{2-3}=2,01		
Сердце, *n*=80	33,60±0,78	23,89±1,71	19,90±1,36
	χ^2_{1-2}=3,47; χ^2_{1-3}=7,16 (*p*<0,01); χ^2_{2-3}=0,71		
Желудок, *n*=80	43,26±0,48	22,78±0,38	20,50±0,79
	χ^2_{1-2}=14,06 (*p*<0,01); χ^2_{1-3}=19,14 (*p*<0,01); χ^2_{2-3}=0,34		
Подвздошная кишка, *n*=80	43,78±0,93	23,50±0,70	20,24±0,73
	χ^2_{1-2}=15,31(*p*<0,01; χ^2_{1-3}=21,15 (*p*<0,01); χ^2_{2-3}=0,54		

Наименьшее количество *Ki*-67-позитивных клеток в пожилом возрасте установлено в паравазальной ткани почки, где оно составляет всего 15,18 % ±1,07.

В дальнейшем, с возрастом ИП продолжает снижаться, однако появляется четко выраженная зависимость от видовой принадлежности органа. Для органов паренхиматозного типа характерно значительное снижение количества клеток, осуществляющих экспрессию белка *Ki*-67. Их процентное содержание в паравазальной соединительной ткани легких и почек после 75 лет минимально и составляет 10,09 %±0,24 (χ^2=9,63) и 10,35 %±0,73 (χ^2=2,01) соответственно (см. таблицу).

В паравазальной соединительной ткани полых органов уровень *Ki*-67-позитивных клеток также с возрастом уменьшается, однако их количество даже после 75—78 лет достаточно высоко и составляет 19,9 %±1,36 (χ^2=0,71) в сердце, 20,5±0,79 (χ^2=0,34) в стенке желудка и 20,24±0,73 (χ^2=0,54) в стенке подвздошной кишки. При этом достоверной разницы данного показателя между исследуемыми полыми органами не установлено (см. таблицу).

Таким образом, исследование позволило установить уровень пролиферативной активности клеток соединительной ткани в возрастном аспекте. Выявлено, что в первом периоде зрелого возраста паравазальная соединительная ткань всех изучаемых органов характеризуется достаточно высоким ИП, что может свидетельствовать о больших потенциальных возможностях клеток и, следовательно, сказываться на функциональной активности кровеносных сосудов.

Исследование показало, что в старших возрастных группах количество клеток, осуществляющих экспрессию белка *Ki*-67, снижается, что актуально и для полых, и для паренхиматозных органов. В то же самое время выявлено, что полые органы даже после 75-летнего возраста сохраняют высокий ИП (почти в 2 раза больше, чем в паренхиматозных), что создает условия в данной возрастной группе для увеличения риска возникновения клеточных линий, имеющих мутации генов.

Все полученные в результате исследования данные по определению процентного содержания *Ki*-67-позитивных клеток в структуре паравазальной соединительной ткани полых и паренхиматозных органов на этапах постнатального онтогенеза полностью вписываются в общие закономерности возрастной изменчивости соединительной ткани организма человека.

По результатам исследования были разработаны регрессионные модели на основе уравнений экспоненциальной регрессии. При анализе приведенных графических регрессионных моделей во всех исследуемых органах был также установлен высокий уровень аппроксимации между возрастом мужчин и значениями ИП клеток паравазальной соединительной ткани. При этом максимальные значения данного критерия были характерны для паравазальной соединительной ткани полых органов пищеварительного тракта, где составили R^2=0,4726 и R^2=0,4451 для желудка (*рис. 1*) и подвздошной кишки соответственно.

В паренхиматозных органах коэффициент аппроксимации был определен на уровне средних значений и составил R^2=0,2229 (*рис. 2*) для легких и R^2=0,2451 для почек.

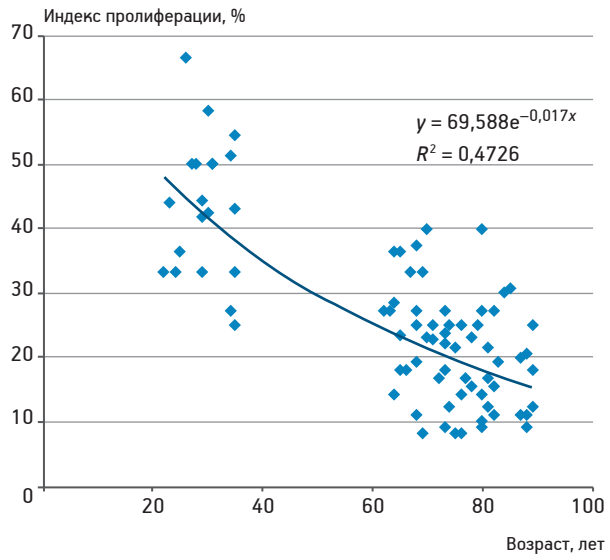


Рис. 1. Экспоненциальная регрессионная модель зависимости индекса пролиферации клеток паравазальной соединительной ткани желудка от возраста мужчин

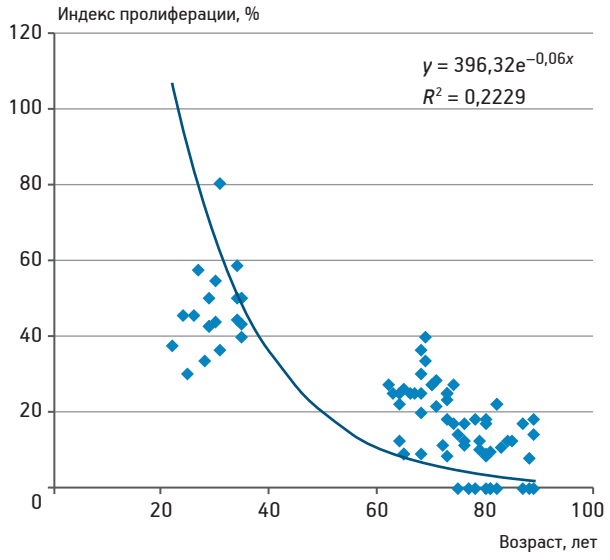


Рис. 2. Экспоненциальная регрессионная модель зависимости индекса пролиферации клеток паравазальной соединительной ткани легких от возраста мужчин

Минимальный коэффициент аппроксимации выявлен в паравазальной ткани сердца, где данный параметр составил R^2=0,0836 (*рис. 3*).

При анализе приведенных графических регрессионных моделей можно сделать вывод, что во всех исследуемых органах был также установлен высокий уровень аппроксимации между возрастом мужчин и значениями ИП клеток паравазальной соединительной ткани.

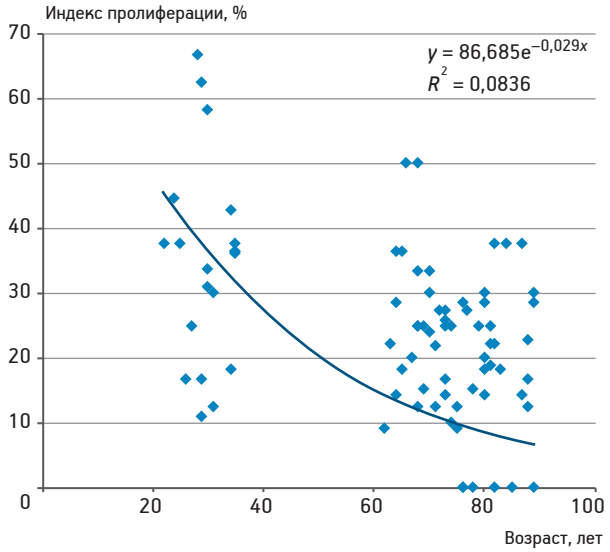


Рис. 3. Экспоненциальная регрессионная модель зависимости индекса пролиферации клеток паравазальной соединительной ткани сердца от возраста мужчин

Выводы

В первом периоде зрелого возраста индекс пролиферации находится практически на одном уровне в клетках паравазальной ткани и паренхиматозных, и полых органов пищеварительного тракта.

Фибробласты паравазальной ткани сердца обладают наименьшей активностью пролиферации среди всех изучаемых органов в данной возрастной группе, которая составляет 33,6±0,78 % (χ^2=8,91), что на 10–15 % меньше, чем в остальных изучаемых органах.

С возрастом интенсивность клеточной пролиферации снижается, причем в пожилом возрасте достоверных отличий по значению индекса установлено не было, а в возрасте старше 75 лет выявляется четко выраженная органная специфичность. В клетках паравазальной ткани паренхиматозных органов индекс пролиферации характеризуется минимальными значениями среди всех изучаемых органов и составляет 10,09±0,24 % (χ^2=44,44) и 10,35±0,73 % (χ^2=64,69) в легких и почках соответственно.

Клетки паравазальной ткани полых органов сохраняют значительно большую пролиферативную активность в старческом возрасте (особенно в желудке и подвздошной кишке), которая практически в 2 раза превосходит аналогичный параметр паренхиматозных органов в данной возрастной группе.

При помощи выведенных уравнений экспоненциальной регрессии можно рассчитать уровень

пролиферации для каждого известного возраста мужчин, что может быть использовано для прогнозирования степени старения фибробластов в паравазальной соединительной ткани.

Авторы выражают благодарность за помощь в выполнении работы руководству Университета в лице и. о. ректора Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого докт. мед. наук профессору С. Ю. Никулиной.

Все этапы работы выполнены на базе лабораторий и оборудовании Университета при финансовом участии авторского коллектива.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Вентцель Е.С.* Теория вероятностей: Учебник для студентов высших технических учебных заведений. М.: Юстиция, 2018.

2. *Волков В.П.* Новые подходы к органометрии сердца // Соврем. мед.: актуальные вопр. 2013. № 22. С. 29–39.

3. *Добрынина И.В., Тельцов Л.П., Музыка И.Г.* Полисахариды клеток соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки эмбрионов человека // Вест. новых мед. технол. (электрон. изд.). 2014. № 1. С. 138.

4. *Жуклина В.В., Горбунов Н.С., Самотесов П.А.* Анатомические особенности передней брюшной стенки у пожилых людей (обзор литературы) // Сибир. мед. обозрение. 2012. № 6. С. 39–43.

5. *Ивина А.А., Семкин В.А., Бабиченко И.И.* Белки KI-67 и GLUT1 в диагностике неоплазии слизистой оболочки рта // Стоматология. 2016. № 6–2. С. 11–12.

6. *Кондратьева Е.В., Адильгереева Э.П., Амелина Е.Л. и др.* Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из фибробластов пациента с муковисцидозом // Сибир. мед. обозрение. 2019. № 2. С. 95–101.

7. *Майбородин И.В., Морозов В.В., Матвеева В.А. и др.* Морфологические изменения при использовании мультипотентных стромальных клеток костномозгового происхождения для восстановления лимфотока в регионе тромбированной вены // Морфология. 2015. № 5. С. 48–55.

8. *Майбородин И.В., Шевела А.И., Морозов В.В. и др.* Особенности тканевой реакции после лигирования вены конечности в эксперименте // Флебология. 2017. № 3. С. 154–163.

9. *Мельникова О.В.* Морфофункциональная характеристика селезенки крыс при экспериментальной гиперкальциемии // Вестн. Ивановской мед. академии. 2016. № 2. С. 20–24.

10. *Никитина Т.Д., Волков А.В., Емшанова Ю.П.* Клинико-анатомические аспекты морфофункционального состояния комплекса сосуд–паравазальные ткани // В сб.: Тезисы докладов X Всесоюзного съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. М., 1986. С. 251.

11. *Расулова Х.А.* Морфологический статус почек при ишемическом инсульте в эксперименте // Сибир. мед. обозрение. 2017. № 1. С. 54–59.

12. *Хисматуллина З.Н.* Биохимические изменения соединительной ткани при старении и других патологических процессах // Вестн. Казанского технол. ун-та. 2012. № 8. С. 237–243.

13. *Chen J.I., Ahn T.I., Colón-Bernal D.I. et al.* The Relationship of Collagen Structural and Compositional Heterogeneity to Tissue Mechanical Properties: A Chemical Perspective // ACS Nano. 2017. Vol. 11. P. 10665–10671.

14. *Lago J.C., Puzzi M.B.* The effect of aging in primary human dermal fibroblasts // PLoS One. 2019. Vol. 14. P. 0219165.

15. *Mavroudis P.D., DuBois D.C., Almon R.R., Jusko W.J.* Modeling circadian variability of core-clock and clock-controlled genes in four tissues of the rat // PLoS One. 2018. Vol. 13. P. 0197534.

16. *Wang Y.I., Rouabhia M., Lavertu D., Zhang Z.* Pulsed electrical stimulation modulates fibroblasts' behaviour through the Smad signalling pathway // J. Tiss. Eng. Regen. Med. 2017. Vol. 11. P. 1110–1121.

17. *Woodley D.T.* Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing // Dermatol. Clin. 2017. Vol. 35. P. 95–100.

18. *Zhang S., Wang L., Zan L.* Investigation into the underlying molecular mechanisms of white adipose tissue through comparative transcriptome analysis of multiple tissues // Molec. Med. Rep. 2019. Vol. 19. P. 959–966.

Поступила в редакцию 09.07.2019
После доработки 10.09.2019
Принята к публикации 17.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 930–934

V. V. Nickel, V. P. Efremova

PROLIFERATIVE ACTIVITY OF PARAVASAL CONNECTIVE TISSUE CELLS IN THE AGE ASPECT

Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, 1 Partizana Zheleznyaka str., Krasnoyarsk 660022, e-mail: vica-nic@mail.ru

The aim of the study was to investigate the age-related variability of the proliferative activity of fibroblasts of the paravasal connective tissue of the hollow and parenchymal organs of men corpses of the first period of mature age, elderly and senile age by detecting the expression of the *Ki*-67 protein (*MIB*-1 clone) and calculating the proliferation index. The results showed that in the first period of mature age, the proliferation index is almost at the same level in the paravasal tissue cells of the parenchymal and hollow organs of the digestive tract, while the fibroblasts of the paravasal tissue of the heart have the lowest proliferation activity among all the organs studied. With age, the intensity of cell proliferation decreases, moreover, at the age of more than 75 years, a distinct organ specificity is revealed. In cells of the paravasal tissue of parenchymal organs, proliferation index is characterized by minimal values among all studied organs. The cells of the paravasal tissue of hollow organs retain significantly greater proliferative activity in the senile, which is almost twice as large as the same parameter of the parenchymatous organs in this age group.

***Key words**: paravasal connective tissue, hollow organs, parenchymal organs, fibroblasts, proliferation index, first period of mature age, elderly age, senile age*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 612.821.7:616.858-036.4:615.038:599.323.4

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 935–940

Ю. Ф. Пастухов[1], В. В. Симонова[1], Т. С. Шемякова[1], М. А. Гузеев[1], С. Г. Полоник[2], И. В. Екимова[1]

ИНДУКТОР ШАПЕРОНОВ *U*-133 УСТРАНЯЕТ НАРУШЕНИЯ СНА В МОДЕЛИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У ПОЖИЛЫХ КРЫС*

[1] Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44, e-mail: pastukh36@mail.ru; [2] Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова, 690022, Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, тесно связанное со старением. Главными причинами его неизлечимости являются поздняя постановка диагноза и использование симптоматического лечения, не способного вмешиваться в молекулярные механизмы нарушений интегративных функций сна и процесса нейродегенерации при развитии БП и старения. В работе оценен терапевтический потенциал нового индуктора шаперонов препарата *U*-133 (ацетилированный 2,3,7-трис-*O*-глюкозид эхинохрома) в модели доклинической стадии БП у пожилых крыс, созданной на основе ингибирования протеасом головного мозга. Препарат *U*-133 получен путем глюкозилирования эхинохрома (2,3,5,7,8-пентагидрокси-1,4-нафтохинона), природного пигмента морских ежей, и обладает нейропротективным, антиоксидантным и противораковым действием. Показано, что терапия препаратом *U*-133, индуцирующим синтез белков теплового шока *Hsp*70*i* и *HSP*40 в головном мозгу, устраняет увеличение длительности дремоты (поверхностного сна) и уменьшение продолжительности глубокого медленного сна, формирующиеся в динамике пролонгированной доклинической стадии БП в модели у крыс *Wistar* пожилого возраста. Поскольку во время глубокого медленного сна создаются условия для повышения скорости синтеза белков и глимфатического клиренса, то вызываемое *U*-133 более значительное увеличение представленности глубокого медленного сна по сравнению с доклинической стадией можно рассматривать как нейропротективный эффект *U*-133, обеспечивающий интенсификацию восстановительной функции нервных клеток и противодействующий начавшейся нейродегенерации.

***Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, доклиническая стадия, старение, индуктор шаперонов, сон, пожилые крысы*

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, тесно связанное со старением [17, 18, 36]. БП приобрела статус социально значимого заболевания в последние 100–150 лет в связи с увеличением почти в 2 раза продолжительности жизни в развитых странах [19], где БП страдают более 16 млн человек. При развитии медицинских технологий и улучшении социальных условий ожидается дальнейшее увеличение продолжительности жизни и числа пациентов. M. Rodriguez и соавт. [36] полагают, что в пожилом возрасте риск развития БП может повыситься более чем в 400 раз.

Главные причины неизлечимости БП хорошо известны. Говоря образно, «ахиллесовой пятой» БП является поздняя постановка диагноза — через 10–30 лет от начала болезни, когда дегенерирует более половины дофамин (ДА)-ергических нейронов в компактной части черной субстанции (кчЧС) и их аксонов в стриатуме и появляются моторные дисфункции, без которых клиницисты не решаются ставить диагноз и начинать лечение. Для ранней постановки диагноза необходим комплекс надёжных немоторных маркеров [11]. Нарушения сна характерны для большинства пациентов с БП, они могут приводить к сбоям в интеграции функций и способствовать развитию нейропатологии [4, 5]. При метаанализе установлено, что у людей при старении происходит увеличение длительности стадии поверхностного сна и уменьшение продолжительности глубокого медленного сна [30]. Острой остаётся проблема, какие из маркеров могут быть использованы для доклинической диагностики БП и других нейродегенеративных

* Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (в рамках государственного задания № АААА-А18-118012290427-7).

заболеваний [5]. Ускорить поиск немоторных маркеров можно путём разработки адекватных моделей БП у животных. Ранее в лаборатории впервые разработан способ моделирования доклинической стадии БП у крыс линии *Wistar* среднего и пожилого возраста на основе нарастающего угнетения убиквитин-протеасомной системы (УПС) головного мозга, которая обеспечивает своевременную и избирательную деградацию аномальных белков, в том числе токсичных олигомеров белка α-синуклеина [3, 6, 7, 16, 22, 32]. В моделях с интраназальным введением ингибитора ферментативной активности протеасом лактацистина (ЛЦ) у крыс среднего и пожилого возраста выявлен ряд признаков нарушений сна и поведения, сигнализирующих о начальном этапе нейродегенерации [1, 2, 9, 10, 22, 35].

Вторая главная причина неизлечимости БП — традиционное симптоматическое лечение, которое направлено, в основном, на ослабление моторной дисфункции и не может остановить процесс дегенерации нейронов [11]. Согласно современным представлениям, нарушения укладки белков являются серьезной угрозой для выживания клеток и молекулярной основой развития старения и связанных с ним нейродегенеративных заболеваний [16, 24, 37]. Повышение экспрессии шаперонов *Heat Shock Proteins* 70 *kDa* (*HSP*70) в головном мозге, способных исправлять неправильную укладку белков, рассматривается как перспективная терапевтическая стратегия, в том числе и при БП [6, 13, 15, 21, 34]. Показано, что при умеренном ослаблении функции протеасом в кчЧС выживают, в основном, те нейроны, в которых повышено содержание индуцируемого шаперона *Hsp*70*i* [33]. Интраназальное введение рекомбинантного *Hsp*70*i* предотвращает переход нейродегенеративного процесса из доклинической в клиническую стадию БП [34]. В последние годы особое внимание уделяется так называемым химическим шаперонам, то есть малым молекулам. К сожалению, известные индукторы шаперона *Hsp*70*i* (селастрол, куркумин, вальпроевая кислота, гелданамицин, аримокломол и др.), наряду с достоинствами, обладают рядом недостатков (побочные токсические эффекты, плохая растворимость и др.) [14, 20, 23]. Нами установлено, что препарат *U*-133, вызывающий повышение *Hsp*70*i* в нейронах кчЧС, ослабляет агрегацию α-синуклеина и процесс нейродегенерации в клинической стадии БП у крыс среднего и пожилого возраста [3, 6, 21]. Какие изменения происходят при этом в состояниях бодрствования и сна, синхронизирующих изменения физиологических функций и протеостаза, неизвестно.

Цель исследования — выяснить, способен ли индуктор шаперонов *U*-133 устранять нарушения сна, формирующиеся в пролонгированной доклинической стадии БП в модели у пожилых крыс.

Материалы и методы

Исследование проведено на пожилых крысах-самцах популяции *Wistar* (19—20 мес) массой тела 400—450 г, содержавшихся при температуре 21±1 °С, фотопериоде свет—темнота 12:12 ч и свободном доступе к воде и пище. Манипуляции с животными осуществляли в соответствии с протоколом, утвержденным комитетом по охране животных ИЭФБ РАН, находящимся в соответствии с национальными и международными требованиями.

Для приближения к длительным срокам развития БП у человека использовали созданную в лаборатории модель пролонгированной до 21 дня доклинической стадии БП у крыс с применением двукратных (с интервалом в 1 нед) интраназальных введений в каждую ноздрю 125 мкг ЛЦ [22]. Для выяснения способности индуктора белков теплового шока препарата *U*-133 корректировать нарушения сна в доклинической стадии БП применяли трёхкратное внутрибрюшинное введение 5 мкг *U*-133 через 4 ч после ЛЦ и через 1 нед после его второго введения. Отечественный нетоксичный препарат *U*-133 был получен путем глюкозилирования эхинохрома (2,3,5,7,8-пентагидрокси-1,4-нафтохинона) — природного пигмента морских ежей [28] — и является ацетилированным 2,3,7-трис-*O*-глюкозидом эхинохрома [8]. Препарат *U*-133 хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер и способен вызывать активацию транскрипционного фактора теплового шока *HSF*1, что приводит к индукции синтеза белков теплового шока *Hsp*70*i* и *HSP*40 (*Hsp*40/*Hdj*1) [21, 26]. Соединение получено из лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН.

Вживление телеметрического модуля 4ET («DSI», США) и электродов для регистрации двух каналов электрокортикограммы (ЭКоГ), электроокулограммы глазных мышц, электромиограммы мышц шеи и температуры тела животного выполняли под общим наркозом золетилом [тилетамина гидрохлорид + золазепама гидрохлорид (Zoletil 100, «Virbac Sante Animale», Франция)].

Регистрацию осуществляли непрерывно (24—48 ч) в условиях свободного поведения с помощью оборудования «Dataquest A. R. T. System» («DSI», США). Анализ временны́х показателей цикла бодрствование—сон и спектральных характеристик ЭКоГ во время медленного сна выполняли с использованием программы Sleep_Pro, созданной в лаборатории. Амплитудно-частотные характеристики ЭКоГ вычисляли с помощью быстрого преобразования Фурье. Медленноволновую активность определяли в состоянии медленного сна как отношение спектральной плотности в полосе частот 0,7—4 Гц за каждый час регистрации к среднесуточной спектральной плотности диапазона 0,7—50 Гц. Глубокий медленный сон рассчитывали как продолжительность сна с преобладанием медленноволновой активности от общего времени медленного сна. Эпоха анализа всех показателей составляла 10 с. Для каждого из состояний рассчитывали среднее значение исследуемых показателей за 12 ч темной (активной) и светлой (неактивной) фаз суток и за 24 ч.

Исследования проведены на двух экспериментальных группах крыс с введением ЛЦ (n=6) и ЛЦ + *U*-133 (n=5), а также на двух контрольных группах: интактные животные (n=3) и с введением растворителей для ЛЦ (фосфатного буфера) и для *U*-133 (ДМСО) (n=6). Достоверные различия между полисомнограммами интактных крыс и крыс, которым вводили растворители, не найдены. Записи проводили через 2 нед (13—14-е сутки) и 3 нед (20—21-е сутки) после первого введения ЛЦ. Общая длительность каждого эксперимента составляла 7 нед.

Статистическую обработку данных проводили с использованием параметрического t-критерия Стьюдента для случаев с нормальным распределением и непараметрического U-критерия Манна—Уитни для распределений, отличных от нормального. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе суточного цикла сон—бодрствование установлено: 1) изменения общего времени, длительности и числа эпизодов бодрствования, медленного и быстрого сна после введения ЛЦ и ЛЦ + *U*-133 по сравнению с контрольной группой не найдены; 2) обнаружено увеличение общего времени дремоты в темной (активной) фазе суток (на 28 %, $p<0,05$) и в среднем за сутки (на 22 %, $p<0,05$), *рис. 1*, которое происходит через 3 нед после первого введения ЛЦ, что подтверждает нарастающее угнетение протеасомной системы в динамике пролонгированной доклинической стадии БП у пожилых крыс; общее время глубокого медленного сна к концу доклинической стадии у пожилых крыс снижалось на 17 % ($p<0,05$) в светлой фазе и на 13 % ($p<0,05$) в среднем за сутки (*рис. 2*); 3) терапия с *U*-133 устраняла ЛЦ-индуцированные изменения в дремоте и глубоком медленном сне, о чем свидетельствовало снижение общего времени дремоты (на 23 % в среднем за сутки) и значимое повышение общего времени глубокого медленного сна (на 68 % в среднем за сутки), см. рис. 2.

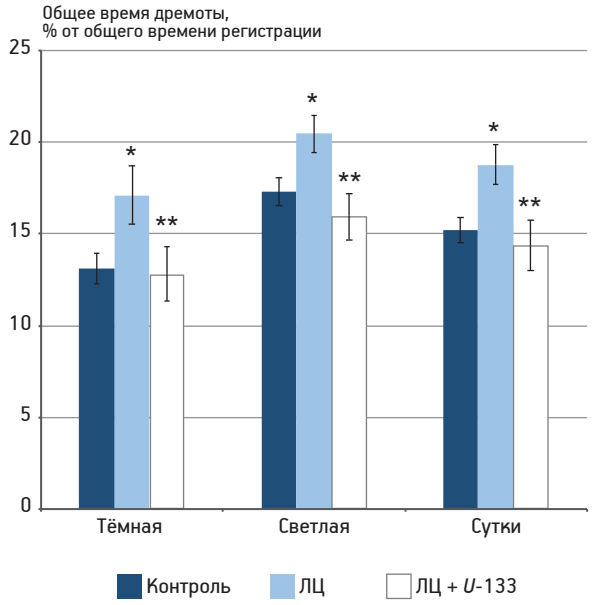


Рис. 1. Изменение общего времени дремоты у пожилых крыс в модели доклинической стадии болезни Паркинсона (ЛЦ) и при терапии индуктором шаперонов U-133 (ЛЦ + U-133)

*Здесь и на рис. 2: «Темная» — среднее значение за 12 ч темной (активной) фазы суток; «Светлая» — среднее значение за 12 ч светлой (неактивной) фазы суток; «Сутки» — среднее значение за 24 ч. Значения представлены в виде средних арифметических ± стандартная ошибка среднего; *достоверные отличия от контрольной группы; **достоверные отличия от ЛЦ при уровне значимости $p<0,05$*

Следовательно, нарастающее угнетение протеасомной системы в динамике доклинической стадии БП в модели у пожилых крыс приводит к увеличению длительности поверхностного сна (дремотного состояния) и снижению общего времени глубокого медленного сна. Увеличение общего времени дремоты более выражено в темной (активной) фазе суток. Это можно сопоставить с повышенной дневной сонливостью у пациентов с БП, встречающейся с частотой 15—85 % [4, 5, 27, 39]

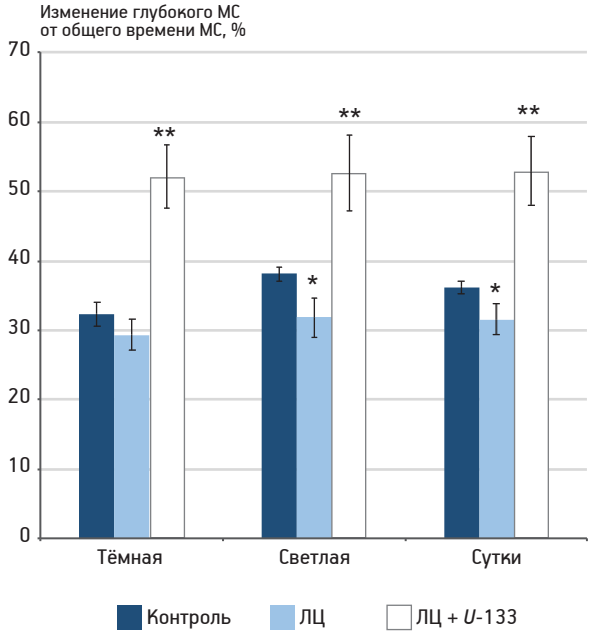


Рис. 2. Изменение представленности глубокого медленного сна (МС) у пожилых крыс в модели доклинической стадии болезни Паркинсона (ЛЦ) и при терапии индуктором шаперонов U-133 (ЛЦ+ U-133)

в зависимости от возраста и стадии заболевания. При развитии повышенной дневной сонливости риск появления БП у пожилых мужчин (старше 70 лет) возрастает в 2–3 раза [12, 27]. Поскольку в стадии глубокого медленного сна повышается скорость синтеза белков в мозге, то уменьшение общего времени этого сна может быть сигналом нарушения протеостаза в доклинической стадии [29, 31, 35].

В предыдущих исследованиях мы выявили ранние нарушения сна, сходные с описанными выше, а также изменения немоторного поведения (признаки тревожности, депрессии, дефицита когнитивных функций) у крыс *Wistar* среднего (7–8 мес) и пожилого (19–20 мес) возраста в такой же модели доклинической стадии БП [1, 2, 9, 10, 22, 35]. При этом сохраняется допороговый уровень нейродегенерации (гибель менее $^1/_3$ ДА-ергических нейронов в кчЧС) и отсутствие моторных дисфункций, что характерно для доклинической стадии БП у человека. Обнаруженные ранние признаки нарушения сна, эмоционального поведения и когнитивных функций могут быть рекомендованы для апробации в клинических исследованиях как незатратные маркеры доклинической стадии БП, проявляющиеся в различных возрастных группах.

Препарат *U-133*, способный индуцировать синтез белков теплового шока *Hsp70i* и *HSP40* (*Hsp40/Hdj1*) в патогенетически значимых для БП структурах головного мозга [3, 21], устраняет нарушения сна, формирующиеся в динамике пролонгированной доклинической стадии в модели БП у пожилых крыс, вызывая снижение общего времени поверхностного сна (дремотного состояния) и увеличение пропорции глубокого медленного сна выше той его представленности, которая характерна для доклинической стадии. Это может создавать условия для активации ключевой функции сна — повышения скорости синтеза белков в мозге и работы глимфатической системы, отвечающей за очистку амилоидных белков в головном мозге [29, 31, 38, 40]. Это крайне необходимо для интенсификации восстановительной функции нервных клеток и противодействия начавшейся нейродегенерации.

Экспериментально доказано, что профилактическое и превентивное введение *U-133* способно повысить в разы уровень *Hsp70i* в ДА-ергической нигростриатной системе, что приводит к ослаблению в ней нейродегенеративного процесса (в среднем в 3 раза) и α-синуклеиновой патологии в моделях доклинической и клинической стадий БП у крыс среднего и пожилого возраста [3, 6, 21]. При этом отмечено восстановление функции выживших нейронов, на что указывает нормализация в кчЧС уровня скорость-лимитирующего фермента синтеза ДА тирозингидроксилазы и везикулярного транспортера моноаминов 2, укладывающего ДА в синаптические везикулы, а также моторного поведения. По совокупности показателей *Hsp70i*-индуцирующий эффект соединения *U-133* предотвращает переход нейродегенеративного процесса из доклинической стадии, в которой сохраняется возможность активации нейропротективных и компенсаторных резервов нигростриатной системы [32, 33], в клиническую стадию БП, для которой характерно истощение этих резервов и приближение нейродегенеративного процесса к «точке невозврата» [5].

Таким образом, совокупность полученных данных свидетельствует, что отечественный препарат *U-133* демонстрирует терапевтический потенциал в моделях БП у крыс разного возраста и есть надежда, что индукторы шаперонов займут достойное место в профилактической и превентивной терапии данной патологии и, возможно, других нейродегенеративных заболеваний. Не исключено, что разнообразная биологическая активность пре-

парата *U*-133, в частности антиоксидантная [25] и противораковая [41], расширит терапевтические показания для применения производного эхинохрома.

Заключение

На модели доклинической стадии болезни Паркинсона, созданной на основе нарастающего угнетения убиквитин-протеасомной системы путём двукратного интраназального введения её ингибитора лактацистина, показано, что у пожилых крыс увеличивается длительность поверхностного сна (состояние дремоты) и снижается продолжительность глубокого медленного сна. Терапия с *U*-133 устраняет эти нарушения, характерные для доклинической стадии болезни Паркинсона и сигнализирующие о начальном этапе нейродегенерации. Представленность глубокого медленного сна, вызываемая *U*-133, значительно превышает его количество по сравнению с действием лактацистина и по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о проявлении шаперонзависимого нейропротективного эффекта *U*-133 не только у животных среднего возраста (7—8 мес, показано нами ранее), но и при старении, когда уменьшается экспрессия шаперонов в структурах головного мозга. Особенности возрастной реактивности убиквитин-протеасомной и шаперонной систем необходимо учитывать при разработке фармакологической стратегии ранней коррекции нарушений интегративных функций мозга в клинических исследованиях. Результаты исследования позволяют предполагать, что отечественный препарат *U*-133 и другие индукторы шаперонов имеют перспективу использования в профилактической и превентивной терапии болезни Паркинсона у людей как среднего, так и старшего возраста.

Авторы выражают благодарность докт. биол. наук И. В. Гужовой и докт. биол. наук Б. А. Маргулису ИЦ РАН за содействие в работе. Электрофизиологические исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием ИЭФБ РАН.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Абдурасулова И.Н., Екимова И.В., Чернышев М.В. и др.* Нарушение когнитивных функций у крыс Вистар в модели доклинической стадии болезни Паркинсона // Журн. высш. нервн. деят. 2019. Т. 69. № 3. С. 373–390.

2. *Екимова И.В., Газизова А.Р., Карпенко М.Н., Плаксина Д.В.* Признаки ангедонии и деструктивные изменения в вентральной области покрышки среднего мозга в модели доклинической стадии болезни Паркинсона в эксперименте // Журн. неврол. и психиатр. 2018. Т. 118. № 9. С. 61–67.

3. *Екимова И.В., Плаксина Д.В., Пази М.Б., Никотина А.Д.* Индуктор шаперонов U133 в стратегии нейропротективной терапии при болезни Паркинсона: экспериментальное исследование // Асимметрия. 2018. Т. 12. № 4. С. 192–203.

4. *Литвиненко И.В., Красаков И.В., Тихомирова О.В.* Нарушения сна при болезни Паркинсона: патофизиологические механизмы, клинические варианты и направления коррекции // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Рук. для врачей. М., 2011. С. 93–97.

5. *Пастухов Ю.Ф.* Изменения характеристик парадоксального сна — ранний признак болезни Паркинсона // Журн. высш. нервн. деят. 2013. Т. 63. № 1. С. 75–85.

6. *Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В., Чеснокова А.Ю.* Молекулярные механизмы патогенеза болезни Паркинсона и перспективы превентивной терапии // В кн.: Нейродегенеративные заболевания — от генома до целостного организма. М.: Науч. мир, 2014. Ч. I. С. 316–355.

7. *Плаксина Д.В., Екимова И.В.* Возрастные особенности альфа-синуклеиновой патологии в головном мозге при моделировании доклинической стадии болезни Паркинсона у крыс // Рос. физиол. журн. 2018. Т. 104. № 6. С. 709–716.

8. *Полоник С.Г., Толкач А.М., Уварова Н.И.* Гликозилирование эхинохрома и родственных гидроксинафтазаринов ортоэфирным методом // Журн. орг. хим. 1994. Т. 30. № 2. С. 248–253.

9. *Симонова В.В., Гузеев М.А., Карпенко М.Н. и др.* Изменения характеристик сна и суммарной двигательной активности в модели доклинической стадии болезни Паркинсона у старых крыс // Журн. неврол. и психиатр. 2018. Т. 118. № 4. Вып. 2. С. 14–20.

10. *Чернышев М.В., Екимова И.В., Газизова А.Р. и др.* Особенности эмоционального поведения у старых крыс в модели доклинической стадии болезни Паркинсона // Журн. эволюц. биохим. 2018. Т. 54. № 6. С. 444–446.

11. *Угрюмов М.В.* Трансляционная и профилактическая медицина как основа борьбы с болезнью Паркинсона // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Рук. для врачей. М., 2014. С. 14–16.

12. *Abbott R.D., Ross G.W., White L.R. et al.* Excessive daytime sleepiness and subsequent development of Parkinson disease // Neurology. 2005. Vol. 65. № 9. P. 1442–1446.

13. *Balchin D., Hayer-Hartl M., Hartl F.U.* In vivo aspects of protein folding and quality control // Science. 2016. Vol. 53. № 6294. P. aac4354.

14. *Bao X.Q., Wang X.L., Zhang D.* FLZ attenuates α-synuclein-induced neurotoxicity by activating heat shock protein 70 // Molec. Neurobiol. 2017. Vol. 54. № 1. P. 349–361.

15. *Calamini B., Morimoto R.I.* Protein homeostasis as a therapeutic target for system diseases // Biochem. Res. Int. 2011. № 306. P. 199–208.

16. *Ciechanover A., Kwon Y.T.* Degradation of misfolded proteins in neurodegenerative diseases: therapeutic targets and strategies // Exp. molec. Med. 2015. Vol. 47. № 3. P. e147.

17. *Chesnokova A.Y., Ekimova I.V., Pastukhov Y.F.* Parkinson's disease and aging // Adv. Geront. 2019. Vol. 9. № 2. P. 164–173.

18. *De Lau L.M., Breteler M.M.* Epidemiology of Parkinson's disease // Lancet Neurol. 2006. Vol. 5. P. 525–535.

19. *Dorsey E.R., Constantinescu R., Thompson J.P. et al.* Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030 // Neurology. 2007. Vol. 68. № 5. P. 384–386.

20. *Ebrahimi-Fakhari D., Wahlster L., McLean P.J.* Molecular chaperones in Parkinson's disease — present and future // J. Parkinsons. Dis. 2011. Vol. 1. № 4. P. 299–320.

21. *Ekimova I.V., Plaksina D.V., Pastukhov Y.F. et al.* New HSF1 inducer as a therapeutic agent in a rodent model of Parkinson's disease // Exp. Neurol. 2018. Vol. 306. P. 199–208.

22. *Ekimova I. V., Simonova V. V., Guzeev M. A. et al.* Changes in sleep characteristics of rat preclinical model of Parkinson's disease based on attenuation of the ubiquitin-proteasome system activity in the brain // J. Evol. Biochem. Physiol. 2016. Vol. 52. № 6. P. 463–474.

23. *Friesen E. L., De Snoo M. L., Rajendran L. et al.* Chaperone-based therapies for disease modification in Parkinson's disease // Parkinson's Disease. 2017. Vol. 2017. ID 5015307.

24. *Hartl F. U.* Cellular Homeostasis and Aging // Ann. Rev. Biochem. 2016. Vol. 2. № 85. P. 1–4.

25. *Lazarev V. F., Nikotina A. D., Mikhaylova E. R. et al.* Hsp70 chaperone rescues C6 rat glioblastoma cells from oxidative stress by sequestration of aggregating GAPDH // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2016. Vol. 470. P. 766–771.

26. *Lazarev V. F., Onokhin K. V., Antimonova O. I. et al.* Kinetics of chaperone activity of proteins Hsp70 and Hdj1 in human leukemia U-937 cells after preconditioning with thermal shock or compound U-133 // Biochemistry (Moscow). 2011. Vol. 76. № 5. P. 590–595.

27. *Leng Y., Goldman S. M., Cawthon P. M. et al.* Excessive daytime sleepiness, objective napping and 11-year risk of Parkinson's disease in older men // Int. J. Epidem. 2018. Vol. 47. № 5. P. 1679–1686.

28. *Mishchenko N.P, Fedoreev S.A., Bagirova, V.L.* Histochrome: a New Original Domestic Drug // Pharm. Chem. J. 2003. Vol. 37. № 1. P. 48–52.

29. *Nakanishi H., Sun Y., Nakamura R. K., Mori K. et al.* Positive correlations between cerebral protein synthesis rates and deep sleep in Macacamulatta // Europ. J. Neurosci. 1997. Vol. 9. P. 271–279.

30. *Ohayon M. M., Carskadon M. A., Guilleminault C., Vitiello M. V.* Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan // Sleep. 2004. Vol. 27. № 7. P. 1255–1273.

31. *Pastukhov Y. F.* Slow-wave sleep and molecular chaperones // J. Evol. Biochem. Physiol. 2016. Vol. 52. № 1. P. 87–101.

32. *Pastukhov Y. F., Chesnokova A. Y., Yakimchuk A. A. et al.* Changes in sleep during degeneration of neurons in the substantia nigra induced by the proteasome inhibitor lactacystin // Neurosci. Behav. Physiol. 2012. Vol. 42. № 4. P. 392–400.

33. *Pastukhov Y. F., Ekimova I. V., Romanova I. V. et al.* Chaperone Hsp70 content in dopaminergic neurons of the substantia nigra increases in proteasome dysfunction // Neurosci. Behav. Physiol. 2013. Vol. 43. № 3. P. 380–387.

34. *Pastukhov Y. F., Plaksina D. V., Lapshina K. V. et al.* Exogenous protein Hsp70 blocks neurodegeneration in the rat model of the clinical stage of Parkinson's disease // Dokl. Biol. Sci. 2014. Vol. 457. № 1. P. 225–227.

35. *Pastukhov Y. F., Simonova V. V., Chernyshev M. V. et al.* Signs of sleep and behavior disorders indicating the initial stage of neurodegeneration in a rat model of Parkinson's disease // J. Evol. Biochem. Physiol. 2017.Vol. 53. № 5. P. 431–434.

36. *Rodriguez M., Rodriguez-Sabate C., Morales I. et al.* Parkinson's disease as a result of aging // Aging Cell. 2015. Vol. 14. № 3. P. 293–308.

37. *Selkoe D. J.* Folding proteins in fatal ways // Nature. 2003. Vol. 426. P. 900–904.

38. *Shokri-Kojori E., Wang G. J., Wiers C. E.* et al. β-Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation // PNAS. 2018. Vol. 115. № 17. P. 4483–4488.

39. *Swick T. J., Ondo W. G.* Parkinson's Disease and Sleep/Wake Disturbances // In: Dopamine and Sleep. Springer, Cham, 2016. P. 115–146.

40. *Xie L., Kang H., Xu Q. et al.* Sleep drives metabolite clearance from the adult brain // Science. 2013. Vol. 342. № 6156. P. 373–377.

41. *Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Polonik S. G. et al.* Hsp70 induction and anticancer activity of U-133, the acytilated trisglucosydic derivative of echinochrome // Med. Chem. 2015. Vol. 5. № 6. P. 263–271.

Поступила в редакцию 15.08.2019
После доработки 11.09.2019
Принята к публикации 17.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 935–940

Yu. F. Pastukhov[1], *V. V. Simonova*[1], *T. S. Shemyakova*[1], *M. A. Guzeev*[1], *S. G. Polonik*[2], *I. V. Ekimova*[1]

U-133, A HEAT SHOCK PROTEINS INDUCER, PRECLUDES SLEEP DISTURBANCES IN A MODEL OF THE PRECLINICAL STAGE OF PARKINSON'S DISEASE IN AGED RATS

[1] I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, 44 pr. Toreza, St. Petersburg 194223, e-mail: pastukh36@mail.ru; [2] G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, 159 str. 100-letyia Vladivostoka, Vladivostok 690022

Parkinson's disease (PD) is a chronic progressive neurodegenerative disease, closely associated with aging. It is considered incurable due to both late diagnosis and symptomatic treatment, which is able to alter neither molecular mechanisms of sleep disruption nor the neurodegenerative processes, developing with aging and PD progression. In the present study, we assess the therapeutic potential of a novel chaperone inducer *U*-133 (acetyl 2,3,7-tris-*O*-glucoside echinochrome) in the preclinical stage of PD modelled in aged rats by the inhibition of the proteasomal system in the brain. *U*-133 is a derivative of the sea urchin pigment echinochrome (2,3,5,7,8-pentahydroxy-1,4-naphthoquinone) produced by glycosylation, which possesses neuroprotective, antioxidant, anticancer properties. The administration of *U*-133, inducing the synthesis of *Hsp*70*i* and *Hdj*1 heat shock proteins in the brain, precludes the increase of light sleep (drowsiness) stage and the decrease of deep slow-wave sleep total time, both occurring with the progression of the preclinical stage of PD modelled in aged *Wistar* rats. Deep slow-wave sleep is thought to promote glymphatic clearance and to accelerate protein synthesis. Thus, *U*-133-induced increase in deep slow-wave sleep percentage, as compared to the preclinical model, is considered having a neuroprotective effect that contributes to the intensification of the restorative function of neurons and counteracts the progressing neurodegeneration.

Key words: *Parkinson's disease, preclinical stage, aging, heat shock proteins inducer, sleep, aged rats*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 612.015.11:616.831-005.1:612.67:599.323.4

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 941–947

И. И. Зорина, Е. А. Фокина, И. О. Захарова, Л. В. Баюнова, А. О. Шпаков

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ *Na*+/*K*+-АТФАЗЫ В КОРЕ МОЗГА У СТАРЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДВУХСОСУДИСТОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ*

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44,
e-mail: zorina.inna.spb@gmail.com

Успешность исследований нейропротекторных свойств соединений зависит от используемой модели заболеваний ЦНС на животных. Разработанные на молодых животных и широко применяемые подходы для моделирования церебральной ишемии/реперфузии могут быть не столь эффективны или вовсе не пригодны для их моделирования на старых животных, использование которых рекомендовано при проведении доклинических испытаний. Цель исследования состояла в обнаружении возрастных особенностей влияния реперфузии головного мозга различной длительности (1 и 3 ч) после двухсосудистой ишемии переднего мозга на уровень продуктов ПОЛ и активность *Na*+/*K*+-АТФазы в коре головного мозга у крыс в возрасте 22–24 мес. Мы обнаружили позднее, через 3 ч, а не через 1 ч после восстановления кровотока накопление продуктов ПОЛ, а именно триеновых конъюгатов и оснований Шиффа, и снижение активности *Na*+/*K*+-АТФазы в коре головного мозга у старых крыс по сравнению с молодыми животными. Это указывает на особенности молекулярных и физиологических механизмов развития нарушений в головном мозгу при ишемии/реперфузии у старых и молодых животных. Выявленные различия в этих механизмах необходимо учитывать при разработке и тестировании соединений, которые в дальнейшем будут использоваться для лечения пациентов пожилого возраста с инсультом и ишемическими повреждениями головного мозга.

***Ключевые слова:** головной мозг, инсульт, старение, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, Na+/K+-АТФаза*

Успешность доклинических исследований нейропротекторных свойств соединений в значительной степени зависит от используемой экспериментальной модели поражения функций ЦНС. Несмотря на то, что многие соединения и их комбинации демонстрируют нейропротекторный эффект при лечении инсульта и ишемических повреждений мозга *in vivo*, большинство из них в дальнейшем не проходят клинические испытания и не эффективны при терапии у пожилых людей [16]. Одной из возможных причин низкой эффективности препаратов при лечении пожилых пациентов является их возраст, существенно влияющий на способности мозга к восстановлению после инсульта и ишемии [23]. Чувствительность тканей мозга к ишемическому повреждению, нейропластичность и способность к восстановлению после перенесенного инсульта зависят также и от сопутствующих заболеваний, которые, как правило, широко представлены у большинства пожилых пациентов. Тем не менее, несмотря на то, что при старении вероятность инсульта увеличивается, а само заболевание протекает тяжелее, чем в молодом возрасте, подавляющее большинство исследований проводят на моделях инсульта и ишемии у молодых животных. Это не позволяет в полной мере смоделировать патогенез ишемии тканей мозга при старении и с учетом возможного наличия сопутствующих возрастных патологий. В связи с этим, исследования нейропротекторных эффектов различных соединений и фармакологических препаратов являются более релевантными при моделировании ишемического повреждения мозга на стареющих и старых экспериментальных животных. Подобный подход рекомендован для использования ассоциацией «Stroke Therapy Academic Industry Roundtable» при проведении доклинических испытаний [17].

Острая ишемия мозга является комплексным процессом. Нарушение мозгового кровотока запускает серию событий на клеточном и молекулярном уровне, что приводит к снижению энергетических ресурсов и смерти нейронов. Этот процесс сопро-

* Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-315-00285) и частично при поддержке государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012290427-7).

вождается образованием АФК и азота, развитием окислительного стресса, нарушением функционирования митохондрий, эксайтотоксичностью, снижением синтеза белка, развитием стресса эндоплазматического ретикулума и запуском процессов воспаления. В результате, нарушается функционирование интегративной сети сигнальных систем мозга, что ведет к гибели нейронов путем апоптоза, некроза или аутофагии [11]. При реперфузии мозга, которая сопровождается восстановлением мозгового кровообращения, происходит усугубление запущенных в ходе ишемии функциональных и молекулярных нарушений, в том числе усиливаются окислительный стресс и продукция факторов воспаления и апоптоза. При ишемии-реперфузии мозга происходит окислительная деструкция биомолекул, что проявляется в накоплении продуктов ПОЛ, а также в окислительной инактивации транспортеров, в том числе Na^+/K^+-АТФазы, на обеспечение работы которой затрачивается до 75 % всех энергетических ресурсов нейронов [7]. Таким образом, активность этого фермента может отражать функциональное состояние нейронов [26—28].

Ишемия мозга у стареющих крыс и крыс сенильного возраста приводит к увеличению размера некротической области мозга и повышению числа погибших нейронов по сравнению с молодыми животными [29]. При старении ослабляются процессы регенерации нервной ткани после ишемии, усиливаются нейровоспалительные процессы, уменьшается пролиферативный потенциал глиальных клеток, что показано при моделировании фокальной ишемии мозга [24]. Имеются основания полагать, что нервная ткань старых животных обладает способностью к восстановлению, но из-за нарушенного ответа нейронов и глиальных клеток на регуляторные сигналы, дисфункций их генного аппарата, а также усиления свободнорадикальных процессов скорость восстановления мозга у них снижается [21].

Цель исследования состояла в обнаружении возрастных особенностей влияния реперфузии головного мозга различной длительности после двухсосудистой ишемии переднего мозга на уровень продуктов ПОЛ и активность Na^+/K^+-АТФазы в коре головного мозга у крыс.

Материалы и методы

В экспериментах использовали самцов крыс линии *Wistar* 22—24 мес. Животных содержали в стандартных условиях вивария, они без ограничений получали стандартную кормовую смесь и водопроводную питьевую воду. Все эксперименты проводили в строгом соответствии с правилами, разработанными и утвержденными этическим комитетом ИЭФБ РАН, правилами и требованиями, изложенными в документах «European Communities Council Directive 1986» (86/609/EEC) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals».

Животные были разделены на четыре группы: 1-я — ложнооперированные животные, соответствующие группе ИР-1 (ЛО-1, n=7); 2-я — животные, перенесшие двухсосудистую ишемию головного мозга с гипотензией и последующей реперфузией в течение 1 ч (ИР-1, n=7); 3-я — ложнооперированные животные, соответствующие группе ИР-3 (ЛО-3, n=7); 4-я — животные, перенесшие двухсосудистую ишемию головного мозга с гипотензией и последующей реперфузией в течение 3 ч (ИР-3, n=7).

Двухсосудистую ишемию переднего мозга вызывали у крыс в состоянии анестезии путем окклюзии каротидных артерий на 20 мин в сочетании с гипотензией [25], которую осуществляли с помощью отбора артериальной крови в шприц (перед отбором крови крысам вводили 0,2 мл 0,9 % раствора *NaCl*, содержащего гепарин в концентрации 50 Ед/мл) до достижения АД 50 мм рт. ст. Для анестезии использовали хлоралгидрат («Sigma Aldrich», США) в дозе 400 мг/кг массы тела. Контроль АД производили с использованием системы для неинвазивного измерения давления «Систола» («Нейроботикс», Россия). Для достижения реперфузии переднего мозга крысам разжимали каротидные артерии и возобновляли кровоток. Одновременно вводили отобранную в шприц кровь в смеси с гепарином в кровяное русло. Животные находились в состоянии реперфузии в течение 1 или 3 ч. Ложнооперированных животных анестезировали, проводили у них препарирование сосудов, но не отбирали кровь и не проводили окклюзии артерий, при этом они находились в состоянии анестезии в течение всего времени эксперимента. Температуру тела животных контролировали с помощью ректального термометра и поддерживали на уровне 36±1 °С. По окончании эксперимента проводили декапитацию животных и быстро, при 4 °С, выделяли кору головного мозга, которую использовали для определения активности Na^+/K^+-АТФазы и изучения показателей ПОЛ, таких как индекс окисленности липидов, со-

держание диеновых (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК), оснований Шиффа и МДА.

Для определения активности Na^+/K^+-АТФазы выделяли фракцию неочищенных синаптосом (P_2-фракцию) из коры головного мозга крыс. Активность фермента определяли с помощью сопряженной реакции в присутствии избытка пируваткиназы, лактатдегидрогеназы и фосфоэнолпирувата, как описано ранее [4]. Активность Na^+/K^+-АТФазы выражали в микромолях неорганического фосфата (Фн) на 1 мг белка за 1 ч. Определение концентрации белка осуществляли по методу Лоури.

Индекс окисленности липидов, уровень ДК и ТК, количество оснований Шиффа, которые отражают уровень первичных и конечных продуктов ПОЛ, соответственно, определяли в липидных экстрактах коры головного мозга крыс, выделенных по методу Фолча [12]. Для определения содержания ДК и ТК и расчета индекса окисленности отбирали 0,25 мл липидного экстракта, растворитель выпаривали. Далее растворяли осадок в 4 мл смеси метанол/гексан (5:1). В пробах определяли оптическую плотность с помощью фотометрии при длинах волн 215, 232 и 274 нм на спектрофотометре «UV-2401» («Shimadzu», Япония) [5]. Количество ДК оценивали с использованием молярного коэффициента экстинкции и выражали в условных единицах на 1 мг общих липидов. Содержание ТК оценивали по оптической плотности при 274 нм и выражали в условных единицах на 1 мг общих липидов. Индекс окисленности липидов рассчитывали как соотношение OD_{232}/OD_{215}. Для определения содержания оснований Шиффа отбирали 0,1 мл липидного экстракта, растворитель выпаривали. Осадок растворяли в 5 мл хлороформа и тщательно перемешивали. Проводили регистрацию флюоресценции при максимуме возбуждения в области 340–360 нм и максимуме испускания в области 440–450 нм на флюориметре «RF-1501» («Shimadzu», Япония) [9]. Количество оснований Шиффа выражали в условных единицах на 1 мг общих липидов. Количество общих липидов определяли гравиметрическим способом путем высушивания аликвоты липидного экстракта до постоянной массы.

Содержание МДА определяли в гомогенатах коры головного мозга крыс по количеству окрашенного комплекса, образующегося в результате взаимодействия МДА с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты в кислой среде при температуре 90–100 °С [1]. Содержание МДА оценивали при 535 и 600 нм на спектрофотометре «UV-2401» («Shimadzu», Япония) и с использованием молярного коэффициента экстинкции выражали в нмоль на 1 мг белка.

Данные представлены как $M \pm m$. Статистическую достоверность определяли при помощи программы IBM SPSS Statistics. Проверку нормальности распределения проводили с использованием критерия Шапиро—Уилка. Анализ достоверности различий проводили на основании t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Ишемия головного мозга сопровождалась повышением интенсивности окислительного повреждения биомолекул, причем этот процесс усиливался при восстановлении кровотока в ходе реперфузии. Нами была изучена активация процессов ПОЛ в коре головного мозга у старых крыс, перенесших двухсосудистую ишемию переднего мозга, которая сопровождалась реперфузией в течение 1 или 3 ч. Нами показано, что церебральная ишемия у старых крыс с реперфузией продолжительностью 3 ч оказывала более выраженное повреждающее действие, чем одночасовая рециркуляция. На это указывает достоверное усиление процессов ПОЛ и снижение активности Na^+/K^+-АТФазы в группе ИР-3 в сравнении с группой ИР-1, *таблица*.

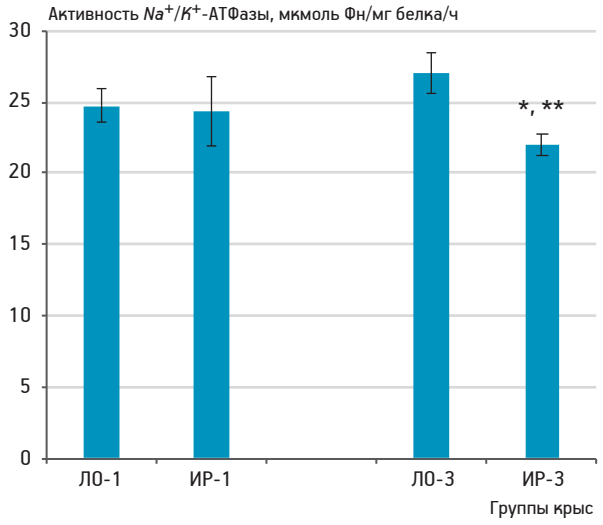
Так, при трехчасовой реперфузии в коре головного мозга у старых крыс, перенесших двухсосудистую ишемию, индекс окисленности липидов и уровень ТК достоверно выше, чем у ложнооперированных животных и крыс, подвергшихся ишемии и одночасовой реперфузии (см. таблицу). Длительная реперфузия мозга также сопровождалась значительно более выраженным повышением содержания оснований Шиффа. В группе ИР-3 содержание оснований Шиффа было повышено в сравнении с ложнооперированными животными в 1,76 раза и в сравнении с крысами, перенесшими одночасовую реперфузию, — в 1,84 раза (см. таблицу). Содержание ДК и МДА в группе ИР-3 имело тенденцию к повышению, но различия с группой ЛО-3 не были статистически значимыми (см. таблицу).

Далее в коре головного мозга старых крыс, перенесших двухсосудистую ишемию и реперфузию в течение 1 и 3 ч, изучали активность Na^+/K^+-АТФазы (*рисунок*). В группе ИР-3 обнаружено достоверное снижение активности Na^+/K^+-

Показатели ПОЛ в коре головного мозга у ложнооперированных крыс и крыс, перенесших двухсосудистую ишемию переднего мозга, с последующей реперфузией в течение 1 или 3 ч, *M±m* (*n*=7)

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
Индекс окисленности липидов	0,154±0,004	0,160±0,008	0,156±0,005	0,175±0,003*,** $p<0,05$
Диеновые конъюгаты, у.е./мг общих липидов	57,8±3,9	58,4±3,0	54,8±3,8	63,5±6,9
Триеновые конъюгаты, у. е./мг общих липидов	13,6±0,2	13,9±1,1	12,9±0,8	15,4±0,9*,** $p<0,05$
МДА, нмоль/мг белка	0,163±0,004	0,173±0,006	0,180±0,027	0,201±0,041
Основания Шиффа, у. е./мг общих липидов	0,154±0,018	0,185±0,031	0,194±0,027	0,341±0,076*,** $p<0,05$

* Различия статистически значимы по сравнению с 3-й группой; ** различия статистически значимы по сравнению со 2-й группой; $p<0,05$.



Активность Na^+/K^+-АТФазы в коре головного мозга у ложнооперированных крыс и крыс, подвергнутых двухсосудистой ишемии мозга через 1 и 3 ч реперфузии.

Данные представлены как M±m (n=7); активность Na+/K+-АТФазы выражали в микромолях Фн/мг белка/ч; различия статистически значимы по сравнению с группой ЛО-3 (*) и по сравнению с группой ИР-1 (**) при p<0,05

АТФазы, причем как в сравнении с соответствующей группой ложнооперированных животных, так и с крысами, подвергнутыми ишемии и реперфузии в течение 1 ч. Активность Na^+/K^+-АТФазы в группе ИР-3 составила 21,9±0,7 мкмоль Фн/мг белка/ч, в то время как в группах ЛО-3 и ИР-1 — 27,1±1,4 и 24,3±2,4 мкмоль Фн/мг белка/ч соответственно (см. рисунок). Таким образом, повышение продолжительности реперфузии до 3 ч приводило к значительному нарушению функциональной активности Na^+/K^+-АТФазы, в то время как одночасовое восстановление кровотока такого эффекта не вызывало.

Данные литературы указывают на то, что 4-гидроксиноненаль, один из конечных продуктов ПОЛ, способен ингибировать активность Na^+/K^+-АТФазы, взаимодействуя с остатками лизина и цистеина в каталитическом сайте фермента [26]. Это соответствует выявленному нами снижению активности Na^+/K^+-АТФазы с одновременным накоплением продуктов ПОЛ, таких как основания Шиффа и ТК, в коре головного мозга крыс, перенесших трехчасовую реперфузию.

Ранее мы исследовали параметры ПОЛ и активность Na^+/K^+-АТФазы в коре головного мозга у молодых крыс 3—4 мес в той же модели двухсосудистой ишемии головного мозга и реперфузии в течение 1 ч [2, 3]. Исходя из того, что интенсивность свободнорадикальных реакций при старении должна увеличиваться, нами было высказано предположение, что при моделировании ишемического повреждения головного мозга у старых животных изучаемые показатели будут меняться в еще большей степени, чем у молодых крыс при том же сроке реперфузии. Однако полученные результаты отчетливо демонстрируют, что для накопления продуктов ПОЛ и снижения активности Na^+/K^+-АТФазы в коре головного мозга старых крыс необходима существенно более длительная рециркуляция после перенесенной ишемии переднего мозга.

Необходимо также отметить, что, как показано нами в настоящем исследовании, активность Na^+/K^+-АТФазы в коре головного мозга у ложнооперированных крыс в сенильном периоде выше, чем ранее изученная активность этого фермента у молодых ложнооперированных крыс [2]. Эти данные согласуются и с данными других авторов о том, что с возрастом у самцов крыс отмечается повышение активности данного фермента в ЦНС [13].

В головном мозге, как и в большинстве других органов, при старении происходит постепен-

ное снижение интенсивности энергетического обмена [19]. Поскольку нейроны потребляют большее количество энергии, чем другие типы клеток, то снижение энергетического обмена приводит к более выраженному ослаблению их функциональной активности, что выражается, в том числе, в более раннем ухудшении когнитивных функций [10, 19]. Эффективность утилизации глюкозы в большинстве областей головного мозга человека отрицательно коррелирует с возрастом [22]. Показано также, что в головном мозгу грызунов наблюдается возрастзависимое снижение поглощения O_2 [20]. Снижение утилизации глюкозы предшествует развитию болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваний [14]. Возможно, в связи с этим после восстановления кровотока для значимого накопления продуктов ПОЛ при ишемии-реперфузии у старых крыс требуется значительно больше времени. В пользу этого предположения свидетельствует и то, что основным источником свободных радикалов в клетке, как в норме, так и в условиях ишемии-реперфузии, служит цепь переноса электронов в митохондриях, играющая определяющую роль в энергетическом обмене [19].

Ранее считалось, что головной мозг молодых животных менее чувствителен к гипоксии/ишемии. Основываясь на полученных нами данных, а также на результатах других авторов, можно прийти к выводу, что головной мозг молодых животных, с одной стороны, более чувствителен к ишемическим воздействиям и, с другой, имеет больший потенциал для восстановления своих функций [6, 30]. Так, J. Y. Yager и соавт. показали, что односторонний экспериментальный ишемический инсульт у крыс приводит к более высокой степени повреждения мозга у молодых крыс (возраст 1 и 3 нед) по сравнению со зрелыми и старыми животными (возраст 6, 9 и 24 нед) [30].

Ишемическому и реперфузионному повреждению подвергаются не только нейроны, но и глиальные клетки, непосредственно контактирующие с капиллярной сетью. Активация глиальных клеток после перенесенной ишемии мозга приводит к образованию глиального рубца, который препятствует прорастанию новых капилляров и аксонов в зоне инфаркта. При старении развивается повышенная реактивность глии, что сопровождается увеличением числа глиальных клеток и развитием глиозов [31]. Вероятно, что реакция клеток головного мозга на ишемию у старых животных должна значительно отличаться от таковой у молодых. I. Badan и соавт. показали, что крысы в возрасте 20 мес демонстрируют более выраженный неврологический дефицит и сниженную способность к восстановлению по сравнению с молодыми 3-месячными животными, перенесшими фокальную ишемию [8]. При гистологическом исследовании срезов головного мозга было показано, что у старых крыс активация астроцитов и микроглии и образование глиального рубца происходят уже в 1-ю неделю после ишемии, тогда как у молодых животных эти процессы выявляются только через 2–4 нед. При этом у молодых крыс показана значительная активация олигодендроцитов на ранних стадиях постишемического периода, в то время как у старых животных такая активация отмечалась на всем протяжении эксперимента [8].

Одним из механизмов повреждения клеток при ишемии является глутаматная эксайтотоксичность. Изменения содержания глутамата и аспартата при ишемии мозга зависят от возраста животного. Известно, что при ишемии у молодых животных показана повышенная реактивность метаботропных глутаматных рецепторов по сравнению со старыми животными, и это может влиять на развитие окислительного стресса и дальнейшее повреждение тканей при нарушении кровоснабжения [15]. Также показано, что 15-минутная полная ишемия головного мозга сопровождается снижением содержания глутамата и аспартата сначала в гиппокампе и через 1 ч после восстановления кровотока в височно-теменной коре, отражая выход этих возбуждающих нейромедиаторов в кровяное русло [18]. С этим наблюдением авторы связывают обнаруженную ими задержку постишемического повреждения головного мозга у старых 24-месячных крыс.

Заключение

Подводя итоги исследования, можно сделать следующие основные выводы. Во-первых, обнаруженное нами более позднее накопление продуктов ПОЛ и снижение активности Na^+/K^+-АТФазы в коре мозга у старых крыс по сравнению с молодыми животными при моделировании двухсосудистой ишемии переднего мозга указывает на особенности молекулярных и физиологических механизмов развития нарушений в головном мозгу при ишемии/реперфузии у старых и молодых животных. Во-вторых, выявленные различия в этих механизмах необходимо принимать во внимание при разработке и тестировании соеди-

нений и фармакологических препаратов с потенциальной нейропротекторной активностью, которые в дальнейшем будут использоваться для лечения пациентов пожилого возраста с инсультом и ишемическими повреждениями головного мозга.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М.* Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. 1987. Т. 1. С. 118–122.

2. *Зорина И.И., Захарова И.О., Баюнова Л.В., Аврова Н.Ф.* Введение инсулина крысам предотвращает накопление диеновых и триеновых конъюгатов и инактивацию Na^+, K^+-АТФ-азы в коре мозга при двухсосудистой ишемии переднего мозга и реперфузии // Журн. эволюц. биохим. 2018. Т. 54. № 3. С. 215–217.

3. *Зорина И.И., Галкина О.В., Баюнова Л.В., Захарова И.О.* Влияние инсулина на уровень перекисного окисления липидов и содержание глутатиона при двухсосудистой ишемии переднего мозга крыс и реперфузии // Журн. эволюц. биохим. 2019. Т. 55. № 4. С. 97–99. doi: 10.1134/S0044452919040132

4. *Молчанова С.М., Москвин А.Н., Захарова И.О. и др.* Влияние двухсосудистой ишемии переднего мозга и введения индометацина и квинакрина на активность Na+, K+-АТФ-азы в разных областях мозга крыс // Журн. эволюц. биохим. 2005. Т. 41. № 1. С. 33–38.

5. *Шведова А.А., Полянский Н.Б.* Метод определения конъюгатов гидроперекисей липидов в экстрактах из тканей // В сб.: Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vivo и in vitro. М.: Наука, 1992. С. 74–75.

6. *Anuncibay-Soto B., Pérez-Rodríguez D., Llorente I.L. et al.* Age-dependent modifications in vascular adhesion molecules and apoptosis after 48-h reperfusion in a rat global cerebral ischemia model // Age. 2014. Vol. 36. № 5. P. 9703. doi: 10.1007/s11357-014-9703-7

7. *Attwell D., Laughlin S.B.* An energy budget for signaling in the grey matter of the brain // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2001. Vol. 21. № 10. P. 1133–1145. doi: 10.1097/00004647-200110000-00001

8. *Badan I., Buchhold B., Hamm A. et al.* Accelerated glial reactivity to stroke in aged rats correlates with reduced functional recovery // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2003. Vol. 23. № 7. P. 845–854. doi: 10.1097/01.WCB.0000071883.63724.A7

9. *Bidlack W.R., Tappel A.L.* Fluorescent products of phospholipids during lipid peroxidation // Lipids. 1973. Vol. 8. № 4. P. 203–207.

10. *Boveris A., Navarro A.* Brain mitochondrial dysfunction in aging // IUBMB Life. 2008. Vol. 60. № 5. P. 308–314. doi: 10.1002/iub.46

11. *Broughton B.R.S., Reutens D.C., Sobey C.G.* Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia // Stroke. 2009. T. 40. № 5. P. e331–e339. doi: 10.1161/STROKEAHA.108.531632

12. *Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H.* A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. biol. Chem. 1957. Vol. 226. № 1. P. 497–509.

13. *Fraser C.L., Arieff A.I.* Na-K-ATPase activity decreases with aging in female rat brain synaptosomes // AJP-Renal Physiol. 2001. Vol. 281. № 4. P. F674–F678. doi: 10.1152/ajprenal.2001.281.4.F674

14. *Gibson G.E., Starkov A., Blass J.P. et al.* Cause and consequence: mitochondrial dysfunction initiates and propagates neuronal dysfunction, neuronal death and behavioral abnormalities in age-associated neurodegenerative diseases // Biochim. Biophys. Acta. 2010. Vol. 1802. P. 122–134. doi: 10.1016/j.bbadis.2009.08.010

15. *Lorenzini P., Pestalozza S., Fortuna S. et al.* Transient global cerebral hypoxia-ischemia in rats: age-related differences in neuronal damage and responsiveness of metabotropic glutamate receptors to excitatory amino acid agonists // Fund. Clin. Pharmacol. 1996. Vol. 10. P. 199.

16. *Moretti A., Ferrari F., Villa R.F.* Neuroprotection for ischaemic stroke: current status and challenges // Pharmacol. Ther. 2015. Vol. 146. P. 23–34. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.09.003

17. *Moskowitz M.A., Grotta J.C., Koroshetz W.J.* The NINDS stroke progress review group final analysis and recommendations // Stroke. 2013. Vol. 44. № 8. P. 2343–2350. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.001192

18. *Müldner A., Hoyer S.* Delayed decrease of excitatory amino acid neurotransmitters in parietotemporal cortex and hippocampus after complete cerebral ischemia in aged rats // Arch. Geront. Geriat. 1997. Vol. 24. № 1. P. 23–33.

19. *Navarro A., Boveris A.* The mitochondrial energy transduction system and the aging process // Amer. J. Physiol. Cell Physiol. 2007. Vol. 292. № 2. P. C670–C686. doi: 10.1152/ajpcell.00213.2006

20. *Navarro A., Boveris A.* Mitochondrial nitric oxide synthase, mitochondrial brain dysfunction in aging, and mitochondria-targeted antioxidants // Adv. Drug. Deliv. Rev. 2008. Vol. 60. № 13–14. P. 1534–1544. doi: 10.1016/j.addr.2008.05.002

21. *Petcu E.B., Sfredel V., Platt D. et al.* Cellular and molecular events underlying the dysregulated response of the aged brain to stroke: a mini-review // Gerontology. 2008. Vol. 54. № 1. P. 6–17. doi: 10.1159/000112845

22. *Petit-Taboue M.C., Landeau B., Desson J.F. et al.* Effects of healthy aging on the regional cerebral metabolic rate of glucose assessed with statistical parametric mapping // Neuroimage. 1998. Vol. 7. № 3. P. 176–184.

23. *Philip M., Benatar M., Fisher M., Savitz S.I.* Methodological quality of animal studies of neuroprotective agents currently in phase II/III acute ischemic stroke trials // Stroke. 2009. Vol. 40. № 2. P. 577–581. doi: 10.1161/STROKEAHA.108.524330

24. *Popa-Wagner A., Badan I., Walker L. et al.* Accelerated infarct development, cytogenesis and apoptosis following transient cerebral ischemia in aged rats //Acta Neuropathol. 2007. Vol. 113. № 3. P. 277–293. doi: 10.1007/s00401-006-0164-7

25. *Raval A.P., Liu C., Hu B.R.* Rat Model of Global Cerebral Ischemia: The Two-Vessel Occlusion (2VO) Model of Forebrain Ischemia // Animal Models Acute Neurolog. Injuries. Humana Press. 2009. P. 77–86. doi: 10.1007/978-1-60327-185-1_7

26. *Siems W.G., Hapner S.J., Van Kuijk F.J.* 4-hydroxynonenal inhibits Na+-K+-ATPase // Free Radical Biol. Med. 1996. Vol. 20. № 2. P. 215–223. doi: 10.1016/0891–5849(95)02041-1

27. *Simão F., Matté A., Matté C. et al.* Resveratrol prevents oxidative stress and inhibition of Na+K+-ATPase activity induced by transient global cerebral ischemia in rats // J. Nutr. Biochem. 2011. Vol. 22. № 10. P. 921–928. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.07.013

28. *Srikanthan K., Shapiro J., Sodhi K.* The role of Na/K-ATPase signaling in oxidative stress related to obesity and cardiovascular disease // Molecules. 2016. Vol. 21. № 9. P. 1172. doi: 10.3390/molecules21091172

29. *Sutherland G.R., Dix G.A., Auer R.N.* Effect of age in rodent models of focal and forebrain ischemia // Stroke. 1996. Vol. 27. № 9. P. 1663–1667. doi: 10.1161/01.STR.27.9.1663

30. *Yager J.Y., Shuaib A., Thornhill J.* The effect of age on susceptibility to brain damage in a model of global hemispheric hypoxia-ischemia // Brain Res. Dev. Brain Res. 1996. Vol. 93. № 1–2. P. 143–154. doi: 10.1016/0165–3806(96)00026–0

31. *Yu W.H., Go L., Guinn B.A. et al.* Phenotypic and functional changes in glial cells as a function of age // Neurobiol. Aging. 2002. Vol. 23. № 1. P. 105–115. doi: 10.1016/S0197-4580(01)00258-5

Поступила в редакцию 22.08.2019
После доработки 21.09.2019
Принята к публикации 30.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 941–947

I. I. Zorina, E. A. Fokina, I. O. Zakharova, L. V. Bayunova, A. O. Shpakov

FEATURES OF THE CHANGES IN LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF *Na+/K+*-ATPASE IN THE BRAIN OF THE AGED RATS IN THE CONDITIONS OF TWO-VESSEL CEREBRAL ISCHEMIA/REPERFUSION

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, 44 pr. Toreza, St. Petersburg 194223,
e-mail: zorina.inna.spb@gmail.com

The success of preclinical neuroprotection studies depends on the model used in animal research. The methodological approaches developed on young animals and widely used for modeling cerebral ischemia/reperfusion injury may not be so effective or not suitable for its modeling on senescent animals, which usage is recommended for preclinical trials. The aim of this study was to investigate the age-related features on the effect of brain reperfusion with different duration (1 and 3 h) after 2-vessel forebrain ischemia on the level of lipid peroxidation (LPO) products and on the activity of Na^+/K^+-ATPase in the cerebral cortex of rats aged 22–24 months. We found a later accumulation of LPO products (3 h instead of 1 h after blood recirculation), specifically triene conjugates and Schiff bases, and a decrease in the activity of Na^+/K^+-ATPase in the cerebral cortex of aged rats compared to young animals. The data obtained reveal the difference in the molecular and physiological mechanisms of the development of disorders in the brain during ischemia/reperfusion in aged and young animals. The revealed differences in these mechanisms should be consider in developing and testing compounds, which will be further used for the treatment of elderly patients with stroke and ischemic brain damage.

***Key words**: brain, stroke, aging, oxidative stress, lipid peroxidation, Na^+/K^+-ATPase*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 612.397.8:616-092-085-053.9(048)

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 948–958

О. Ю. Кытикова, Т. П. Новгородцева, М. В. Антонюк, Т. А. Гвозденко

ПЛАЗМАЛОГЕНЫ В ПАТОФИЗИОЛОГИИ И ТЕРАПИИ ВОЗРАСТЗАВИСИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ*

Владивостокский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания — Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, Владивосток, ул. Русская, 73 Г, e-mail: kytikova@yandex.ru

Патогенез возрастзависимых заболеваний, таких как метаболический синдром, сахарный диабет 2-го типа, болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера, связан с окислительным стрессом и хроническим воспалением. Нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза сопровождается развитием дисфункции пероксисом и нарушением биосинтеза плазмалогенов, что может быть взаимосвязано с процессом старения и развитием возрастзависимой патологии. Отражая функциональную активность пероксисом, плазмалогены могут служить не только потенциальными биомаркерами заболеваний, связанных с окислительным стрессом и старением, но и являться важной терапевтической мишенью. Целью данного обзора является анализ современных знаний о малоизученных биологических и патологических аспектах участия плазмалогенов в патофизиологии нейродегенеративных и метаболических заболеваний лиц старшего возраста. Понимание роли плазмалогенов в патофизиологии данных заболеваний может привести к разработке эффективных диагностических и прогностических биомаркеров, а также методов лечения для нейродегенеративных и метаболических заболеваний лиц старшего возраста.

Ключевые слова: плазмалогены, старение, нейродегенеративные заболевания, метаболические заболевания

В связи с неуклонно прогрессирующим демографическим постарением населения мира перед научными коллективами остро стоит вопрос необходимости выявления патофизиологических механизмов, лежащих в основе старения, и заболеваний, связанных, сопутствующих или являющихся вторичными по отношению к физиологическому угасанию организма [11]. Старение сопровождается рядом морфологических и функциональных изменений, которые происходят медленно и в течение длительного времени [21]. Большинство заболеваний у лиц старшего возраста также имеет хроническое течение, длительную продромальную фазу, во время которой заболевание протекает субклинически. Сложные взаимодействия старения и хронических заболеваний имеют характер взаимного отягощения, что необходимо учитывать при разработке стратегий профилактики и эффективного лечения различных болезней, свойственных лицам старшего возраста [30, 57].

Старение ассоциировано с хроническим системным воспалением, в основе которого лежит нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза стареющего организма [35]. С другой стороны, с возрастом значительно увеличивается вероятность возникновения хронических заболеваний, таких как метаболический синдром (МС), сахарный диабет 2-го типа (СД 2-го типа), болезнь Паркинсона (БП) и болезнь Альцгеймера (БА), которые так же, как и процесс физиологического старения, связаны с окислительным стрессом и хроническим воспалением [5, 14, 16, 31].

Окислительно-восстановительный дисбаланс сопровождается развитием дисфункции пероксисом и нарушением биосинтеза плазмалогенов, которые являются основными структурными и функциональными липидами клетки и реализуют рецепторные эффекты нейротрансмиттеров, нейромодуляторов, сигнальных молекул, а также выполняют антиоксидантную функцию [25, 44, 58]. Исследования в области липидомики указывают на снижение уровня плазмалогенов при нейродегенеративных и метаболических заболеваниях лиц старшего возраста, подчеркивая, что плазмалогены могут служить не только потенциальными биомаркерами заболеваний, связанных с окислительным стрессом и старением, но и являться важной терапевтической мишенью. Был предложен ряд подходов для повышения уровня плазмалоге-

* Исследование проведено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания ФНИ.

нов с целью предотвращения возникновения или замедления прогрессирования нейродегенеративных и метаболических заболеваний, однако ограниченное число научных данных свидетельствует о важности проведения дополнительных исследований в данном направлении [1, 28, 34, 45, 53, 61].

Целью данного обзора является анализ современных знаний о малоизученных биологических и патологических аспектах участия плазмалогенов в патофизиологии нейродегенеративных и метаболических заболеваний у лиц старшего возраста. Обобщены данные о последних достижениях в области терапевтического применения плазмалогенов и представлен взгляд авторов на возможные перспективы их использования при лечении нейродегенеративных и метаболических заболеваний у лиц старшего возраста.

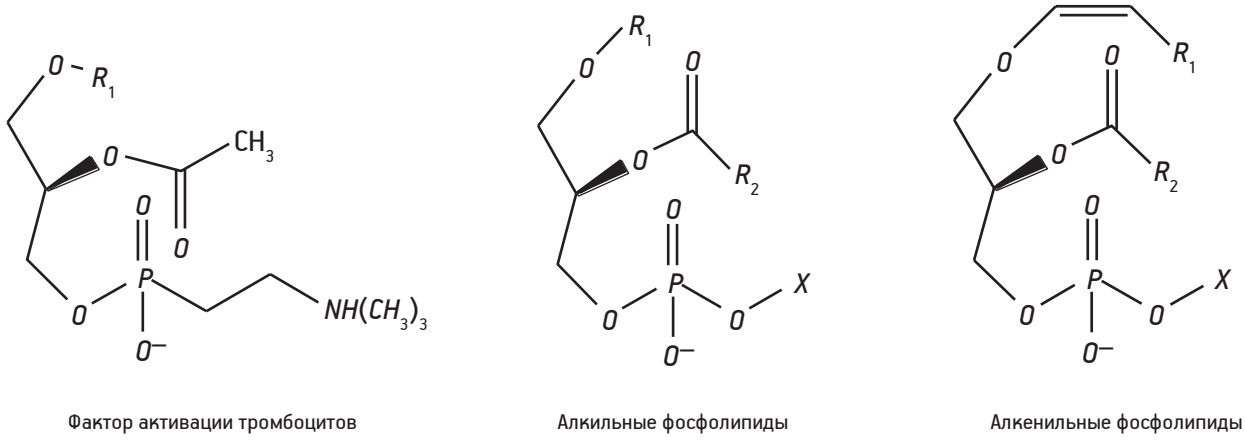
В базе данных PubMed осуществляли поиск научных публикаций по данной теме за последние 10 лет. В обзор включали источники информации, в которых освещались вопросы структуры, функционирования плазмалогенов, а также их участие в патогенезе и лечении нейродегенеративных и метаболических заболеваний у лиц старшего возраста. Информационные запросы включали следующую совокупность ключевых слов: плазмалогены, старение, нейродегенеративные заболевания, метаболические заболевания. Найденные по запросу названия статей просматривали и в случае их соответствия тематике литературного обзора подвергали анализу рефераты статей. При соответствии реферата критериям включения проводили поиск и анализ полнотекстового варианта статьи.

Плазмалогены как структурные и функциональные липиды клетки

Центральная функция в физиологических и патологических процессах организма отводится липидам [46]. Интеграция данных липидомики с генетическими, транскрипционными и ферментными данными для изучения метаболических путей заболевания является одним из перспективных направлений современных исследований [27].

Фосфолипиды (ФЛ) — обязательные структурные компоненты клеточных биомембран, которые подразделяются на диацильные, алкилацильные и алкенил-ацильные субклассы [58]. Алкильные и алкенильные липиды обозначаются как плазманильные и плазменильные липиды, 1-*O*-(1*Z*-алкенил)-2-ацил-глицерофосфолипиды — как плазменил-ФЛ или плазмалогены, к которым также относят фактор активации тромбоцитов (ФАТ) [24] (*рисунок*).

Плазмалогены как структурные липиды клетки. Плазмалогены, или альдегидогенные липиды (от греч. πλάσμα — сформированное, лат. *al (cohol) dehydrogenatum* — альдегид и *genes* — рождающийся) — ФЛ, у которых в *sn*-1 положении остатка глицерина находится виниловая эфирная связь и сложноэфирная связь в положении *sn*-2. Положение *sn*-1 состоит из углеродных цепей C16:0 (пальмитиновая кислота), C18:0 (стеариновая кислота) или C18:1 (олеиновая кислота). В положении *sn*-2, как правило, находятся полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК): арахидоновая (АК, 20:4*n*-6) или докозагексаеновая кислота (ДГК, 22:6*n*-3). Однако в белом веществе мозга преобладают мононенасыщенные виды, обеспечивающие стабильность миелина [42]. В за-



Основные липиды с простой эфирной связью.

R_1 — углеводородный фрагмент жирных спиртов и альдегидов; R_2 — углеводородные фрагменты жирных кислот; X — этаноламин, холин, серин, инозитол

висимости от вида азотистого основания выделяют холин плазмалогены (choline plasmalogens — *PlsCho*) и этаноламин плазмалогены (ethanolamine plasmalogens — *PlsEtn*) [51].

Плазмалогены являются необходимыми составляющими всех клеточных мембран и встречаются не только во всех тканях животных (сердце, почки, легкие, семенники, скелетные мышцы, эритроциты, лимфоциты, макрофаги, спинной и головной мозг), но и в отдельных видах растений (бобовые, водоросли). Содержание плазмалогенов в тканях достаточно высоко и составляет 18—22 % от суммарного содержания ФЛ у человека, однако их количество широко варьирует в различных типах тканей и клеток [17].

Так, *PlsCho* преобладают в сердечной мышце и менее распространены в других органах и тканях [51]. Подтверждена специфичность *PlsCho* (особенно с 18:1 в *sn*-2 положении остатка глицерина) как чувствительного биомаркера атерогенного состояния. Выявлены тесные положительные корреляции содержания *PlsCho* с сывороточной концентрацией адипонектина и ЛПВП (ХС-ЛПВП), обратные взаимосвязи с окружностью талии, содержанием триглицеридов и ЛПНП (ХС-ЛПНП) [26]. К *PlsCho* относят ФАТ, который является универсальным сигнальным посредником между клетками, принимающим участие в различных физиологических процессах.

Плазмалогены с фрагментами этаноламина преобладают в составе миелина [51]. Обнаружено, что *PlsEtn* составляет около 30 % от общего количества ФЛ мозга и 70 % от количества ФЛ, присутствующих в миелине. Данный вид плазмалогенов является уникальным классом глицерофосфолипидов, которые играют важную роль в опосредованных мембранной структурой клетки функциях, таких как везикулярный транспорт и рецепторные эффекты нейротрансмиттеров, нейромодуляторов и сигнальных молекул. Пониженные уровни *PlsEtn* в плазме связаны с БА, сердечно-сосудистыми, респираторными, метаболическими и онкологическими заболеваниями [58]. Содержание плазмалогенов относительно стабильно во всех фракциях липопротеинов. Однако этот факт не может объяснить наблюдение P.Wiesner и соавт., почему корреляция уровня *PlsCho* и ХС-ЛПВП сильнее, чем уровня *PlsEtn* и ХС-ЛПВП [68].

Биосинтез плазмалогенов инициируется в пероксисомах и заканчивается в эндоплазматической сети [24]. В просвете пероксисом при участии фермента дигидроксиацетонфосфат-ацилтрансферазы и ацил-КоА из дигидроксиацетонфосфата образуется ацил-дигидроксиацетонфосфат. Затем при участии алкилдигидроксиацетонфосфатсинтазы и ферментов ацил-КоА-редуктаз 1 и 2 он превращается в 1 алкил-дигидроксиацетонфосфат, который в эндоплазматической сети восстанавливается с помощью алкилдигидроксиацетонфосфат редуктазы с образованием 1-алкилглицерол-3-фосфата и в дальнейшем алкилацилглицерофосфата, алкилглицерола, глицерофосфолипидов холина и этаноламина. На заключительном этапе биосинтеза С1-алкилдесатураза участвует в образовании *PlsCho* и *PlsEtn*. Именно структурными особенностями плазмалогенов (виниловая эфирная связь в *sn*-1 положении остатка глицерина и ПНЖК в положении *sn*-2) обусловлены их разнообразные функции в организме.

Плазмалогены как функциональные липиды клетки. Несмотря на то, что плазмалогены являются основными структурными липидами клетки, их биологическая функция оставалась неизученной в течение ряда лет [44]. Известно, что плазмалогены играют важную роль в качестве нейропротекторов и модуляторов сигнальных механизмов, реализуемых в клеточных мембранах [25]. Недавний всплеск интереса к этим липидам обусловлен также их антиоксидантной функцией, участием в клеточном обмене ПНЖК и роли депо, через которое транспортируются жирные кислоты [10, 44].

Наличие ПНЖК в боковых цепях плазмалогенов предопределяет их депонирующую функцию. Основной функцией, приписываемой плазмалогенам, особенно в ЦНС, является именно хранение ПНЖК, в частности ДГК, обладающей нейропротекторным свойством. Структура и функции головного мозга, например нейротрансмиссия, зависят от взаимоотношений АК и ДГК жирных кислот. Способность ДГК метаболизироваться в мозге в нейропротектины связана с регуляцией воспалительного процесса и восстановлением целостности нервной ткани после повреждения [17].

Плазмалогены накапливаются в липидных рафтах, которые являются высокодинамичными мембранными микродоменами (10—200 нм), координирующими клеточные процессы посредством сигнализации. За последние несколько лет была выяснена важность липидных рафтов в модуляции врожденных и приобретенных иммунных реакций, регуляции нейротрансмиссии. Липидные рафты рассматриваются как продукт взаимодействия холестерина, насыщенных жирных кислот и специфических мембранных белков. Нарушение

данных взаимосвязей сопровождается изменением функции липидного рафта и, соответственно, сигнальных путей клетки. Установлено тесное взаимодействие плазмалогенов и холестерина, повышенный уровень которого ассоциирован со старением и возрастзависимой патологией (нейродегенеративные заболевания, когнитивные нарушения, деменция, рак, остеопороз, метаболические и сосудистые заболевания). Сообщалось о возрастном повышении холестерина в мембранах, что приводит к снижению их текучести, нарушению функции ионных каналов, активности мембраносвязанных ферментов и изменению диффузионных свойств сигнальных молекул [29]. От количества ПНЖК, содержащихся в *PlsEtn*, зависит этерификация холестерина. В клетках, характеризующихся дефицитом плазмалогенов, наблюдали снижение уровня этерифицированного холестерина и повышение свободного и общего холестерина [45].

Установлено, что плазмалогены действуют как эндогенные антиоксиданты, защищая липиды и липопротеины от повреждающего действия окислительного стресса [9]. Это связано с тем, что атомы водорода, примыкающие к виниловой эфирной связи, более подвержены окислению, защищая от него ПНЖК, находящиеся в *sn*-2 положении остатка глицерина [60]. Продукты окисления плазмалогенов не способны к дальнейшей инициации процессов ПОЛ и могут его блокировать.

Таким образом, очевидна важная роль плазмалогенов как нейропротекторов и модуляторов сигнальных механизмов в защите клеток от ПОЛ, участии в клеточном обмене ПНЖК и роли депо, через которое транспортируются жирные кислоты. Однако точные биологические функции плазмалогенов и лежащие в их основе молекулярные механизмы все еще предстоит раскрыть.

Плазмалогены и старение

Плазмалогены являются основными составляющими клеточных мембран, поэтому клетки используют определенные компенсаторные механизмы для поддержания оптимального состава ФЛ, чтобы справиться с возможным дефицитом плазмалогенов. Динамическая адаптация клеточного фосфолипидного состава к экзогенным липидным изменениям была показана в эксперименте на многих модельных системах [8, 17]. К примеру, в исследовании A. Brodde и соавт. установлено, что основной компенсаторной реакцией на снижение уровня плазмалогенов является регулирование уровня фосфатидилэтаноламина [8]. В исследовании F. Dorninger и соавт. показано, что при дефиците плазмалогенов общее количество ПНЖК в фосфатидилэтаноламине также остается постоянным в фибробластах человека и в мозгу мышей [17]. Данные результаты представляют интерес в отношении изучения патологических процессов организма, ассоциированных со снижением уровня плазмалогенов.

Первичный дефицит плазмалогенов встречается достаточно редко (1/100 000) и связан с пероксисомными нарушениями, возникающими в результате генетических мутаций [10]. Вторичный дефицит плазмалогенов, обусловленный снижением их синтеза или повышенной деградацией, связан с метаболическими и воспалительными заболеваниями. Дефицит плазмалогенов выявлен при ряде заболеваний, сопровождающих физиологическое старение, — БП, БА, МС, СД 2-го типа и ряд других [10]. Кроме того, дефицит плазмалогенов наблюдают при физиологическом старении человека и животных.

Так, у крыс в первой половине жизни наблюдали увеличение содержания плазмалогенов в мозгу, что может быть связано с увеличением активности дигидроксиацетонфосфат-ацилтрансферазы — ключевого фермента, участвующего в первом этапе биосинтеза плазмалогенов в пероксисомах. При старении крыс выявлено уменьшение уровня плазмалогенов, что может быть обусловлено изменением функционирования специфического фермента их деградации — фосфолипазы *A*2 (*PLA*2), которая избирательно действует на плазмалогены (*Pls-PLA*2) [3]. В то же время, по данным экспериментальных исследований E. R. Werner и соавт., уровень плазмалогенов не коррелировал с возрастом мышей [69]. Наблюдаемая противоречивость экспериментальных данных требует дальнейшего изучения.

Липидная структура рафтов при старении претерпевает выраженные изменения в содержании плазмалогенов, ПНЖК (ДГК и АК), общем количестве полярных (фосфатидилинозитол, сфингомиелин) и нейтральных липидов (холестерин, эфиры стеринов). Возраст-обусловленная модификация липидных рафтов имеет зависимость от пола и более выражена у женщин в менопаузе. По данным одних авторов, уровень плазмалогенов имеет различия в степени снижения их видов (*PlsCho* и *PlsEtn*) между мужчинами и женщинами среднего возраста при отсутствии гендерных различий в старших возрастных группах [38]. В то же время,

в исследовании M. Nishimukai и соавт. обнаружено, что доля *PlsCho* среди общей сывороточной концентрации ФЛ прогрессивно снижается с возрастом, особенно это характерно для мужчин старше 40 лет [47].

Нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза при старении приводит к развитию дисфункции пероксисом. Это может быть взаимосвязано как с процессом старения, так и развитием возрастзависимой патологии [38]. Учитывая тот факт, что первый этап биосинтеза плазмалогенов происходит в пероксисомах, у пациентов с пероксисомными болезнями закономерно выявляется системное снижение уровня плазмалогенов. В связи с этим, плазмалогены могут отражать системную функциональную активность пероксисом и не только служить потенциальными биомаркерами заболеваний, связанных с окислительным стрессом и старением, но и являться важной мишенью для эффективного их лечения.

Таким образом, метаболизм плазмалогенов и особенности его регулирования являются актуальными областями современных исследований, в частности в геронтологии и гериатрии. Плазмалогены играют важную роль в реакции клеток на развитие воспалительного процесса, и их дисфункция является патофизиологическим механизмом развития различных заболеваний, в частности метаболических и нейродегенеративных [46].

Нейродегенеративные нарушения при патологии в старших возрастных группах и участие в них плазмалогенов

Болезнь Альцгеймера. Изменения в составе и содержании различных субклассов ФЛ присутствуют на ранних стадиях развития БА — прогрессирующего нейродегенеративного нарушения, которое поражает 6—10 % населения старше 65 лет и до 50 % — старше 85 лет. В настоящее время более 35 млн человек во всем мире страдают БА или другими видами деменции [2]. Она является третьей по частоте причиной смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Мультифакторная природа данного заболевания поставила его в ряд актуальных проблем современности, обладающих медико-социальной значимостью для общества [14]. В основе патогенеза БА лежит развитие патологических нарушений в реализации сигнальных связей между нейронами и микроглией. Это позволило ряду авторов рассмотреть это заболевание с позиций гипотезы нейроиммуномодуляции, объясняющей связь метаболических нарушений и процесса нейродегенерации. В настоящее время не существует установленного биомаркера для БА, который позволил бы оценить факторы риска ее развития и предотвратить прогрессирование процесса, поэтому крайне привлекательным является изучение функции липидов в патогенезе БА [58].

Среди ФЛ наибольшую роль в поддержании оптимальной функции головного мозга играют плазмалогены. В большинстве исследований были представлены данные о снижении уровня плазмалогенов в крови и спинномозговой жидкости пациентов с БА [20, 25, 33, 50, 61, 62]. По данным Y. Otoki и соавт., в последние годы пристальное внимание отводится определению содержания как *PlsCho*, так и *PlsEtn* в плазме крови, поскольку у пациентов, в частности страдающих нейродегенеративными расстройствами, наблюдается снижение уровня конкретных видов плазмалогенов [50]. Отмечается, что дефицит *PlsEtn* специфичен для БА и не наблюдается при других нейродегенеративных заболеваниях. Разница в степени выраженности снижения *PlsEtn* в различных областях головного мозга может быть связана с различной стадией прогрессирования заболевания. Многие исследователи сообщают о снижении уровня как *PlsEtn*, так и *PlsCho* при БА [20]. В то же время, F. Dorninger и соавт. было описано повышение уровня *PlsCho* [17]. Подобная противоречивость результатов подтверждает сложность патогенеза БА. До настоящего времени неясно, является уменьшение уровня плазмалогенов причиной или следствием заболевания [61]. Основываясь на данных о снижении уровня плазмалогенов у пациентов с БА, M. S. Hossain и соавт. предположили их нейропротекторную функцию [25].

С одной стороны, длинноцепочечные жирные кислоты поставляют материалы для биосинтеза плазмалогенов, с другой — повышение содержания насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот в плазме может быть связано со снижением функции пероксисом. Именно дисфункцией пероксисом может быть обусловлен дефицит липидов с простой эфирной связью, в частности дефицит плазмалогенов [4]. Так, результаты исследования J. Kou и соавт. указывают на снижение при тяжелой стадии БА уровня плазмалогенов, нуждающихся в интактных пероксисомах для осуществления их биосинтеза, что согласуется с пероксисомной дисфункцией, наблюдаемой при данном заболевании [33].

Как свидетельствуют представленные данные, современный уровень знаний об этиопатогенезе БА позволяет рассматривать плазмалогены в качестве перспективной терапевтической мишени данного заболевания.

Болезнь Паркинсона во всем мире является вторым по распространенности прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, встречающимся в пожилом возрасте у 1–2 % населения [31]. Совокупные коэффициенты заболеваемости данной патологией по старшим возрастным группам, полученные в рамках пяти популяционных скрининговых исследований, были в несколько раз выше, чем в исследованиях по всему населению [39]. Частота встречаемости БП увеличивается от 0 % у молодых до 88 % в старших возрастных группах, и среднее значение возраста на момент постановки диагноза в недавно опубликованных исследованиях A. D. Macleod и соавт. составило 60,8–70 лет [39]. БП не имеет расовых различий, но чаще встречается у мужчин, чем у женщин [23]. Причина развития этого нейродегенеративного заболевания в настоящее время неизвестна, но взаимосвязана с такими факторами, как старение, наследственность и воздействие химических веществ окружающей среды [59]. Несмотря на существование стратегий управления заболеванием, нейропротекторные или модифицирующие вмешательства, способные замедлять, останавливать или обращать вспять прогрессирование болезни, в настоящее время не разработаны [41].

По данным H. Zhao и соавт., важная роль в развитии данной патологии отводится нарушениям липидного метаболизма и митохондриальной дисфункции [70]. Результаты исследования P. A. LeWitt и соавт. показали, что при БП нарушается синтез фосфатидилхолина и лизофосфатидилхолина [36]. При данном заболевании выявлено значительное снижение уровня плазмалогенов как в сыворотке крови, так и в липидных рафтах коры головного мозга. Так, в исследовании E. Miville-Godbout и соавт. установлена тесная корреляция снижения уровня *PlsEtn* крови и головного мозга и БП [45]. В работах N. Fabelo и соавт. показано, что в липидных рафтах клеточных мембран коры головного мозга у больных БП, независимо от стадии заболевания, наряду с резким снижением содержания плазмалогенов наблюдают низкие уровни длинноцепочечных ПНЖК, особенно АК и ДГК [59]. Полученные данные коррелируют со снижением когнитивных функций, наблюдаемым у больных при развитии данного нейродегенеративного нарушения [59]. В исследовании F. T. Liu и соавт. продемонстрированы взаимодействия метаболических изменений мозга, дофаминергической дисфункции и клинических проявлений БП [37]. Данные результаты позволили авторам представить дополнительные доказательства в поддержку сложных патофизиологических механизмов БП, в которые вовлечены многие составляющие.

Метаболические нарушения при патологии в старших возрастных группах и участие в них плазмалогенов

У человека процесс физиологического старения замедляется или ускоряется при развитии метаболических заболеваний [65]. Плазмалогены представляют особый интерес для исследований метаболических нарушений, связанных с окислительным стрессом и хроническим воспалением [66].

Метаболический синдром и сахарный диабет 2-го типа. В современной медицине широко обсуждаемой проблемой является МС. Этот синдром был определен как кластер патогенетически взаимосвязанных состояний, включая инсулинорезистентность, артериальную гипертензию, увеличение массовой доли висцерального жира и нарушения углеводного, липидного и пуринового обмена [56]. Распространенность МС достигает 20–25 % случаев в старших возрастных группах и варьируется в зависимости от популяции, расы и пола [5].

СД 2-го типа является гетерогенным, широко распространенным в старших возрастных группах заболеванием со сложным патогенезом [16]. Последовательное снижение функции β-клеток и инсулинорезистентность является признанной отличительной чертой старения и СД 2-го типа [6]. Гипергликемия при СД может привести к дальнейшему ухудшению функции β-клеток и пролиферации, связанной со старением, в то же время существуют исследования, демонстрирующие отсутствие данной взаимосвязи на животных моделях [7]. Кроме того, у пожилых людей старше 70 лет с СД 2-го типа, получавших лечение метформином, отмечали значительно меньший уровень смертности, чем у пациентов, которые не имели СД 2-го типа при меньшем числе коморбидной патологии и не страдали ожирением [16].

Работами ряда авторов показано, что изменение липидного профиля сыворотки крови, в частно-

сти конкретных молекулярных видов триглицеридов, связано с риском развития МС и СД 2-го типа [22]. По данным V. Gonzalez-Covarrubias и соавт., некоторые молекулярные виды липидов в плазме и сыворотке крови тесно связаны с риском развития МС [19]. Так, у пациентов с СД 2-го типа наблюдали высокий уровень в плазме крови конкретных молекулярных видов триглицеридов (48:1, 50:0 и 52:1) [55]. Кроме того, сывороточный уровень этих молекулярных видов триглицеридов был статистически значимо выше у пожилых людей, чем у молодых лиц.

Выявление причинно-следственной связи между составом жирных кислот клеточных мембран и СД 2-го типа может способствовать более глубокому пониманию основных патофизиологических механизмов заболевания. Существует ограниченное число исследований, описывающих взаимосвязь чувствительности к инсулину и жирнокислотного состава фосфолипидов клеточных мембран у больных с данной патологией [67]. В исследовании R. N. Weijers показано, что у здоровых лиц уровень длинноцепочечных ПНЖК фосфолипидов положительно коррелирует с чувствительностью к инсулину, а изменения в жирнокислотном составе мембран вызывают изменения в реакции чувствительности к инсулину [67]. Длинноцепочечные ПНЖК (АК и ДГК), которые преимущественно сконцентрированы в плазмалогенах, играют определенную роль в патогенезе СД 2-го типа. По результатам исследования P. Koehrer и соавт. установлено значительное снижение уровня ПНЖК у больных СД 2-го типа и диабетической ретинопатией, независимо от стадии заболевания [32]. Анализ отдельных классов ФЛ показал снижение уровня фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, при этом уровни *PlsEtn* и *PlsCho* оставались стабильными у всех больных СД 2-го типа. В то же время, авторы ставят под сомнение включение плазмалогенов в патогенез диабетической ретинопатии [32]. Однако в исследовании S. Wallner и соавт. показано, что плазмалогены вовлечены в этиопатогенез СД как 1-го, так и 2-го типа через оксидативный стресс [66]. Дефицит плазмалогенов может увеличить подверженность β-клеток поджелудочной железы к окислительному повреждению и вызвать прогрессирование СД 1-го типа [49]. Снижение уровня *PlsEtn* и активация процессов ПОЛ были обнаружены у пациентов с МС и пациентов с СД 2-го типа [13].

Результаты ряда исследований отражают взаимосвязь метаболических и нейродегенеративных заболеваний пожилых лиц. Ожирение, как составляющая МС, способствует воспалению гиппокампа, что, в свою очередь, может привести к синаптической дисфункции и развитию когнитивных нарушений. Данная закономерность продемонстрирована в исследовании M. N. Valcarcel-Ares и соавт. [64]. В работе Z. Peng и соавт. установлено, что наличие МС не только повышает риск развития когнитивных нарушений, но и статистически значимо связано с их тяжестью у больных с БП старше 60 лет [52]. Среди нескольких эндокринных механизмов, вовлеченных в патогенез МС, выделена связь уровня тестостерона в сыворотке крови с липолизом и снижением синтеза жирных кислот, в то время как дефицит тестостерона сопровождается увеличением отложения жира, развитием резистентности к инсулину [12]. Недавно уровень тестостерона был отнесен к факторам риска развития МС у лиц старшего возраста. Риск развития МС, как и БП, увеличивается с возрастом преимущественно у мужчин, что может быть связано с низким уровнем тестостерона, изменениями липидного спектра сыворотки крови, ИМТ и инсулинорезистентностью [12]. Имеющиеся данные свидетельствуют, что терапевтические вмешательства, направленные на лечение МС, могут быть весьма полезны и с позиций управления когнитивными нарушениями у лиц старших возрастных групп [52]. По данным ретроспективного когортного исследования, проведенного E. De Pablo-Fernandez и соавт., существует корреляция БП и СД 2-го типа [15]. Эти результаты могут отражать общую генетическую предрасположенность и наличие общих патогенетических механизмов данных возраст-ассоциированных заболеваний, что требует проведения дополнительных исследований.

Таким образом, анализ современных знаний о биологических и патологических аспектах участия плазмалогенов в патофизиологии нейродегенеративных и метаболических заболеваний у лиц старшего возраста позволил продемонстрировать разноплановость и малоизученность проблемы и определить перспективность научных исследований данного направления. Понимание роли плазмалогенов в патофизиологии возрастзависимых заболеваний будет способствовать разработке средств и методов их адресной терапии.

Опыт применения плазмалогенов в качестве терапевтического средства

Известно, что плазмалогены получают либо из пищевых продуктов, либо путем синтеза в печени и эпителии ЖКТ. Далее плазмалогены экспортируются в кровь через ХС-ЛПНП и поступают в мозг. В то же время, механизмы абсорбции в кишечнике и последующего транспорта все еще далеки от ясности.

В мировой практике плазмалогены применяют для профилактики и лечения иммунодефицитных, инфекционно-воспалительных, онкологических, сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний [34]. В настоящее время известны синтетические, полусинтетические препараты и биологически активные соединения, к которым относят природные алкил-глицерины, содержащиеся в морских гидробионтах. С этой точки зрения, диета с содержанием морепродуктов является наиболее приемлемым источником плазмалогенов для человека [18]. Так, перспективным для разработки и наибольшим по количеству природных алкилглицеринов (АГ) источником являются липиды пищеварительной железы кальмара *Berryteuthis Magister*. Дальневосточными учеными доказано, что введение в диету экспериментальных крыс АГ и *n-3* ПНЖК сопровождалось повышением содержания плазмалогенов в липидах печени животных [18]. Результаты исследований Л. А. Даниловой и соавт. показали, что употребление природных АГ приводит к позитивным функциональным изменениям в регуляторных системах стареющего организма [1]. Так, у лиц пожилого возраста, принимавших природные АГ в течение 90 сут по 500 мг, спектральные характеристики биоэлектрической активности головного мозга показали активацию иммунной системы, белков, связанных с трофикой нервной ткани, и снижение риска развития нейродегенеративных процессов. Дополнительные исследования, направленные на изучение механизмов действия липидов из морских гидробионтов, позволят расширить область их терапевтического применения.

В исследовании R. Mankidy и соавт. описан новый механизм регуляции уровня холестерина, повышенное содержание которого ассоциируется со старением и заболеваниями, его сопровождающими [40]. Селективное мембранное повышение ПНЖК, содержащих этаноламин плазмалогены, может быть достигнуто посредством влияния 1-алкил-2-ПНЖК глицерина, направленного на снижение уровня общего и свободного холестерина в клетках. Авторы полагают, что в определенных вариантах заместитель в *sn-3*-положении остатка глицерина расщепляется липазами. Полученные в результате этого процесса 1-алкил-2-ацил глицерин или 1-алкенил-2-ацил глицерин превращаются в плазмалогены в эндоплазматическом ретикулуме, обходя пероксисомы, функция которых снижается при старении. Введение антивоспалительных природных соединений позволит модифицировать внутриклеточные сигнальные пути, отвечающие за воспалительную активацию клеток.

Рассматривается возможность терапевтического применения плазмалогенов при лечении БА. Специфические нейропатологические повреждения коры головного мозга при БА включают внутриклеточные нейрофибриллярные клубки и внеклеточные отложения фибриллярных агрегатов амилоидных β-пептидов (амилоидные бляшки). Нейровоспаление, наблюдаемое при данном заболевании, вызывает когнитивные нарушения посредством усиления генерации пептида β-амилоида. В исследовании T. Katafuchi и соавт. продемонстрировано, что при применении природных плазмалогенов у взрослых мышей в условиях липополисахарид-индуцированной глиальной активации наблюдали снижение аккумуляции β-амилоида. Это позволило авторам рассмотреть возможные перспективы терапевтического применения плазмалогенов при лечении БА [28].

Высвобождение β-пептидов модулируется β- и γ-секретазами. Недавно было описано тормозящее воздействие плазмалогенов на активность γ-секретаз [48]. Учитывая, что γ-секретазный комплекс в последние годы является одной из основных мишеней при поиске соединений для лечения БА, применение плазмалогенов может быть весьма перспективным. В то же время, результаты исследований T. Fujino и соавт. показали, что пероральное введение плазмалогенов, извлеченных из морских гребешков, сопровождалось улучшением памяти у пациентов только с начальными проявлениями заболевания в возрасте до 77 лет и преимущественно у женщин [61]. Причина недостаточной эффективности лечения у пациентов старше 77 лет может быть связана с возрастными, необратимыми дегенеративными изменениями в головном мозге [33]. При этом неясно, почему эффективность была очевидна только у женщин.

Результаты исследований T. Fujino и соавт. не показали эффективности применения плазма-

логенов у пациентов с умеренными когнитивными расстройствами (от англ. *MCI* — Mild Cognitive Impairment) [61]. Но в отличие от пациентов с БА, у больных с *MCI* установлены лучшие показатели в группе плацебо. Эти данные указывают на то, что психическое состояние людей может изменить концентрацию плазмалогенов в ткани мозга. Авторы предполагают, что данные о наличии гендерных различий процесса старения липидного рафта могут лежать в основе более высокой распространенности когнитивного спада, развивающегося при БА у женщин в постменопаузе. Липидные рафты богаты не только плазмалогенами, но и сигнальными молекулами, включая рецепторы, связанные с G-белком (*GPCR*), тирозинкиназные рецепторы (*RTK*), протеинкиназу C, семейство *Src*-киназ. Рафты тесно связаны и с патологической обработкой белка-предшественника амилоида при БА. Существуют данные, указывающие на возможность плазмалогенов выполнять роль лигандов *GPCR* [63]. Возможно, что *n-3* ПНЖК плазмалогенов могут быть эффективны для улучшения когнитивной функции при начальных формах БА [53], так как ДГК и эйкозапентаеновая (20:5 *n-3*) жирные кислоты тесно связаны с функциями мозга [54].

В работе E. Miville-Godbout и соавт. показано, что увеличение уровня плазмалогенов при пероральном приеме *PPI*-1011 — предшественника *PlsEtn* — может предотвратить гибель нейронов у мышей с БП. Кроме того, *PPI*-1011 повышает сывороточный уровень ДГК, которая является нейропротектором [45].

S. Mawatari и соавт. на спонтанной, широко используемой модели сахарного диабета Zucker Diabetic Fatty (ZDF) оценивали эффективность применения у крыс диеты, содержащей 0,1% очищенных плазмалогенов [43]. Результаты показали уменьшение уровня холестерина и фосфолипидов плазмы крови после 4 нед диеты. Ограниченное число научных данных диктует необходимость дополнительных исследований в данном направлении.

Понимание роли плазмалогенов в патофизиологии возрастзависимых заболеваний может привести к разработке эффективных диагностических и прогностических биомаркеров, а также средств и методов адресной терапии нейродегенеративных и метаболических заболеваний (МС, СД 2-го типа, БП и БА) у лиц старших возрастных групп.

Заключение

Старение, как и возрастзависимые метаболические и нейродегенеративные заболевания, ассоциировано с хроническим системным воспалением, в основе которого лежит нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза. Окислительно-восстановительный дисбаланс сопровождается развитием дисфункции пероксисом и нарушением биосинтеза плазмалогенов, которые являются важными структурными и функциональными липидами клетки. Плазмалогены реализуют рецепторные эффекты нейротрансмиттеров, нейромодуляторов, сигнальных молекул, участвуют в клеточном обмене полиненасыщенных жирных кислот, выполняют роль депо, через которое транспортируются жирные кислоты, и регулируют процессы ПОЛ, выступая в качестве антиоксидантов. Исследования в области липидомики указывают на снижение уровня плазмалогенов при нейродегенеративных и метаболических заболеваниях у лиц старшего возраста, подчеркивая, что плазмалогены могут служить не только потенциальными биомаркерами заболеваний, связанных с окислительным стрессом и старением, но и являться важной терапевтической мишенью. В настоящее время существует ряд терапевтических подходов для повышения уровня плазмалогенов с целью предотвращения возникновения или замедления прогрессирования нейродегенеративных и метаболических заболеваний, однако ограниченное число научных данных свидетельствует о важности проведения дополнительных исследований в данном направлении.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Данилова А.Л., Шульгина Л.В., Рыбченко А.А., Шабанов Г.А.* Влияние природных 1-*O*-алкил-глицеринов на защитный статус организма у пожилых людей // Междунар. журн. прикл. фунд. исслед. 2016. № 12. С. 1194–1198.
2. *Alzheimer's Association.* Alzheimer's disease facts and figures // Alzheimers Dement. 2017. № 13. P. 325–373.
3. *André A., Juanéda P., Sébédio J., Chardigny J.* Plasmalogen metabolism-related enzymes in rat brain during aging: influence of n-3 fatty acid intake // Biochimie. 2006. № 88. P. 103–111.
4. *Argyriou C., D'Agostino M.D., Braverman N.* Peroxisome biogenesis disorders // Transl. Sci. Rare Dis. 2016. № 1. P. 111–144.
5. *Araujo A.B., Wittert G.A.* Endocrinology of the aging male // Best Pract. Res. Clin. Endocr. Metab. 2011. № 25. P. 303–319.
6. *Bannister C.A., Holden S.E., Jenkins-Jones S. et al.* Can people with type 2 diabetes live longer than those without? A comparison of mortality in people initiated with metformin or sulphonylurea monotherapy and matched, non-diabetic controls // Diabetes Obes. Metab. 2014. № 16. P. 1165–1173.

7. Barzilai N., Ferrucci L. Insulin resistance and aging: a cause or a protective response? // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2012. № 67. P. 1329–1331.

8. Brodde A., Teigler A., Brugger B. et al. Impaired neurotransmission in ether lipid-deficient nerve terminals // Hum. molec. Genet. 2012. № 21. P. 2713–2724.

9. Broniec A., Żądło A., Pawlak A. Interaction of plasmenylcholine with free radicals in selected model systems // Free Radic. Biol. Med. 2017. № 106. P. 368–378.

10. Braverman N.E., Moser A.B. Functions of plasmalogen lipids in health and disease // Biochim. Biophys. Acta. 2012. № 1822. P. 1442–1452.

11. Burch J.B., Augustine A.D., Frieden L.A. et al. Advances in geroscience: impact on healthspan and chronic disease // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2014. № 69. P. S1–S3.

12. Chrysohoou C., Panagiotakos D., Pitsavos C. et al. Low Total Testosterone Levels are Associated With the Metabolic Syndrome in Elderly Men: The Role of Body Weight, Lipids, Insulin Resistance, and Inflammation; The Ikaria Study // Rev. Diabet. Stud. 2013. № 10. P. 27–38.

13. Colas R., Sassolas A., Guichardant M. et al. LDL from obese patients with the metabolic syndrome show increased lipid peroxidation and activate platelets // Diabetologia. 2011. № 54. P. 2931–2940.

14. Cui Y., Liu X., Wang M. et al. Lysophosphatidylcholine and amide as metabolites for detecting alzheimer disease using ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry-based metabonomics // J. Neuropathol. Exp. Neurol. 2014. № 73. P. 954–963.

15. De Pablo-Fernandez E., Goldacre R., Pakpoor J. et al. Association between diabetes and subsequent Parkinson disease: A record-linkage cohort study // Neurology. 2018. № 91. P. 139–142.

16. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin // New Engl. J. Med. 2002. № 346. P. 393–403.

17. Dorninger F., Moser A.B., Kou J. et al. Alterations in the Plasma Levels of Specific Choline Phospholipids in Alzheimer's Disease Mimic Accelerated Aging // J. Alzheimers Dis. 2018. № 62. P. 841–854.

18. Ermolenko E.V., Latyshev N.A., Sultanov R.M., Kasyanov S.P. Technological approach of 1-*O*-alkyl-*sn*-glycerols separation from *Berryteuthis magister* squid liver oil // J. Food Sci. Technol. 2016. № 53. P. 1722–1726.

19. Gonzalez-Covarrubias V., Beekman M., Uh HW. et al. Lipidomics of familial longevity // Aging Cell. 2013. № 12. P. 426–434.

20. Gonzalez-Dominguez R., Garcia-Barrera T., Gomez-Ariza J.L. Combination of metabolomic and phospholipid-profiling approaches for the study of Alzheimer's disease // J. Proteomics. 2014. № 104. P. 37–47.

21. Gvozdenko T.A., Kytikova O.Yu., Vitkina T.I., Borshchyov P.V. Description of the Immune System of Residents of the Russian Far East During Physiological Aging // Adv. Geront. 2012. Vol. 2. № 4. P. 319–322.

22. Halter J.B., Musi N., McFarland Horne F. et al. Diabetes and cardiovascular disease in older adults: current status and future directions // Diabetes. 2014. № 63. P. 2578–2589.

23. Heller J., Mirzazade S., Romanzetti S. et al. Impact of gender and genetics on emotion processing in Parkinson's disease — A multimodal study // Neuroimage Clin. 2018. № 18. P. 305–314.

24. Honsho M., Abe Y., Fujiki Y. Plasmalogen biosynthesis is spatiotemporally regulated by sensing plasmalogens in the inner leaflet of plasma membranes // Sci. Rep. 2017. № 7. P. 43936.

25. Hossain M.S., Mineno K., Katafuchi T. Neuronal orphan G-protein coupled receptor proteins mediate plasmalogens-induced activation of ERK and Akt signaling // PLoS One. 2016. № 11. P. 0150846.

26. Hui S.P., Chiba H., Kurosawa T. Liquid chromatography-mass spectrometric determination of plasmalogens in human plasma // Anal. Bioanal. Chem. 2011. № 400. P. 1923–1931.

27. Hyotylainen T., Oresic M. Systems biology strategies to study lipidomes in health and disease // Prog. Lipid. Res. 2014. № 55. P. 43–60.

28. Katafuchi T., Ifuku M., Mawatari S., Fujino T. Effects of plasmalogens on systemic lipopolysaccharide-induced glial activation and β-amyloid accumulation in adult mice // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2012. № 1262. P. 85–92.

29. Kawanishi N., Kato Y., Yokozeki K. et al. Effects of aging on serum levels of lipid molecular species as determined by lipidomics analysis in Japanese men and women // Lipids Hlth Dis. 2018. № 17. P. 135.

30. Kennedy B.K., Berger S.L., Brunet A. et al. Aging: a common driver of chronic diseases and a target for novel interventions // Cell. 2014. № 159. P. 709–713.

31. Khan A.U., Akram M., Daniyal M., Zainab R. Awareness and current knowledge of Parkinson disease: A Neurodegenerative disorder // Int. J. Neurosci. 2018. № 1. P. 64.

32. Koehrer P., Acar N., Saab S. et al. Polyunsaturated fatty acids and Plasmalogens in diabetics // Investig. Ophthalmol. Visual Sci. 2013. Vol. 54. P. 1158.

33. Kou J., Kovacs G.G., Höftberger R. et al. Peroxisomal alterations in Alzheimer's disease // Acta Neuropathol. 2011. № 122. P. 271–283.

34. Kullenberg D., Taylor LA., Schneider M., Massing U. Health effects of dietary phospholipids // Lipids Hlth Dis. 2012. № 11. P. 3.

35. Kytikova O.Yu., Gvozdenko T.A., Vitkina T.I. Oxidative DNA Damage in the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Older Patients // Adv. Geront. 2017. Vol. 7. № 2. P. 163–165.

36. LeWitt P.A., Li J., Lu M. et al. Metabolomic biomarkers as strong correlates of Parkinson disease progression // Neurology. 2017. № 88. P. 862–869.

37. Liu F.T., Ge J.J., Wu J.J. et al. Clinical, Dopaminergic, and Metabolic Correlations in Parkinson Disease: A Dual-Tracer PET Study // Clin. Nucl. Med. 2018. № 43. P. 562–571.

38. Maeba R., Nishimukai M., Sakasegawa S. et al. Plasma/Serum Plasmalogens: Methods of Analysis and Clinical Significance // Adv. clin. Chem. 2015. № 70. P. 31–94.

39. Macleod A.D., Henery R., Nwajiugo P.C. et al. Age-related selection bias in Parkinson's disease research: are we recruiting the right participants? // Parkinsonism Relat. Disord. 2018. № 55. P. 128–133.

40. Mankidy R., Ahiahonu PW., Ma H. et al. Membrane plasmalogen composition and cellular cholesterol regulation: a structure activitystudy // Lipids Hlth Dis. 2010. № 9. P. 62.

41. Marques A., Figorilli M., Pereira B., Derost P. et al. mpulse control disorders in Parkinson's disease patients with RLS: a cross sectional-study// Sleep Med. 2018. N. 48. P. 148–154.

42. Magnusson C.D., Haraldsson G.G. Ether lipids // Chem. Phys. Lipids. 2011. № 164. P. 315–340.

43. Mawatari S., Katafuchi T., Miake Y., Fujino T. Dietary plasmaalogen increases erythrocyte membrane plasmalogen in rats // Lipids Hlth Dis. 2012. № 11. P. 161–168.

44. Messias M.S.F., Mecatti G.C., Priolli D.G., Carvalho P.O. Plasmalogen lipids: functional mechanism and their involvement in gastrointestinal cancer // Lipids Hlth Dis. 2018. № 17. P. 41.

45. Miville-Godbout E., Bourque M., Morissette M. et al. Plasmalogen precursor mitigates striatal dopamine loss in MPTP mice // Brain Res. 2017. № 1674. P. 70–76.

46. Nakamura Y., Shimizu Y., Horibata Y. et al. Changes of plasmalogen phospholipid levels during differentiation of induced pluripotent stem cells 409B2 to endothelial phenotype cells // Sci. Rep. 2017. № 7. P. 9377.

47. Nishimukai M., Maeba R., Yamazaki Y. et al. Serum choline plasmalogens, particularly those with oleic acid in *sn*-2, are associated with proatherogenic state // J. Lipid. Res. 2014. № 55. P. 956–965.

48. Onodera T., Futai E., Kan E. et al. Phosphatidylethanolamine plasmalogen enhances the inhibiting effect of phos-

phatidylethanolamine on γ-secretase activity // J. Biochem. 2015. № 157. P. 301–309.

49. Oresic M., Simell S., Sysi-Aho M. et al. Dysregulation of lipid and amino acid metabolism precedes islet autoimmunity in children who later progress to type 1 diabetes // J. exp. Med. 2008. № 205. P. 2975–2984.

50. Otoki Y., Kato S., Kimura F. et al. Accurate quantitation of choline and ethanolamine plasmalogen molecular species in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J. Pharm. Biomed. Anal. 2017. № 134. P. 77–85.

51. Pedrono F., Khan N.A., Legrand A.B. Regulation of calcium signalling by 1–0-alkylglycerols in human Jurkat T lymphocytes // Life Sci. 2004. № 74. P. 2793–2801.

52. Peng Z., Dong S., Tao Y. et al. Metabolic syndrome contributes to cognitive impairment in patients with Parkinson's disease // Parkinsonism Relat. Disord. 2018. № 55. P. 68–74.

53. Phillips M.A., Childs C.E., Calder P.C., Rogers P.J. No effect of omega-3 fatty acid supplementation on cognition and mood in individuals with cognitive impairment and probable Alzheimer's disease: a randomised controlled trial // Int. J. molec. Sci. 2015. № 16. P. 24600–24613.

54. Ren H., Luo C., Feng Y. et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote amyloid-β clearance from the brain through mediating the function of the glymphatic system // FASEB J. 2017. № 31. P. 282–293.

55. Rhee E.P., Cheng S., Larson M.G. et al. Lipid profiling identifies a triacylglycerol signature of insulin resistance and improves diabetes prediction in humans // J. clin. Invest. 2011. № 121. P. 1402–1411.

56. Samson S.L., Garber A.J. Metabolic syndrome // Endocr. Metab. Clin. North Amer. 2014. № 43. P. 1–23.

57. Santamaria F., Montella S., Greco L. et al. Obesity duration is associated to pulmonary function impairment in obese subjects // Obesity. 2011. № 8. P. 1623–1628.

58. Su X.Q., Wang J., Sinclair A.J. Plasmalogens and Alzheimer's disease: a review // Lipids Hlth Dis. 2019. № 18. P. 100.

59. Fabelo N., Martin V., Santpere G. et al. Severe alterations in lipid composition of frontal cortex lipid rafts from Parkinson's disease and incidental Parkinson's disease // Molec. Med. 2011. № 17. P. 1107–1118.

60. Fernández R., Garate J., Lage S. et al. Identification of biomarkers of necrosis in xenografts using imaging mass spectrometry // J. Amer. Soc. Mass. Spectrom. 2015. № 27. P. 244–254.

61. Fujino T., Yamada T., Asada T. et al. Efficacy and Blood Plasmalogen Changes by Oral Administration of Plasmalogen in Patients with Mild Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment: A Multicenter, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial // EBioMed. 2017. № 17. P. 199–205.

62. Yamashita S., Kiko T., Fujiwara H. et al. Alterations in the levels of amyloid-β, phospholipid hydroperoxide, and plasmalogen in the blood of patients with Alzheimer's disease: possible interactions between amyloid-β and these lipids // J. Alzheimers Dis. 2015. № 50. P. 527–537.

63. Yarandi S.S., Peterson D.A., Treisman G.J. et al. Modulatory effects of gut microbiota on the central nervous system: how gut could play a role in neuropsychiatric health and diseases // J. Neurogastroenterol. Motil. 2016. № 22. P. 201–212.

64. Valcarcel-Ares M.N., Tucsek Z., Kiss T. et al. Obesity in Aging Exacerbates Neuroinflammation, Dysregulating Synaptic Function-related Genes and Altering Eicosanoid Synthesis in the Mouse Hippocampus: Potential Role in Impaired Synaptic Plasticity and Cognitive Decline // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2019. № 54. P. 290–298.

65. Veronica G., Esther R.R. Aging, metabolic syndrome and the heart // Aging Dis. 2012. № 3. P. 269–279.

66. Wallner S., Schmitz G. Plasmalogens the neglected regulatory and scavenging lipid species // Chem. Phys. Lipids. 2011. № 164. P. 573–589.

67. Weijers R.N. Lipid composition of cell membranes and its relevance in type 2 diabetes mellitus // Curr. Diabetes Rev. 2012. № 8. P. 390–400.

68. Wiesner P., Leidl K., Boettcher A. et al. Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization tandem mass spectrometry // J. Lipid. Res. 2009. № 50. P. 574–585.

69. Werner E.R., Keller M.A., Sailer S. et al. A novel assay for the introduction of the vinyl ether double bond into plasmalogens using pyrene-labeled substrates // J. Lipid. Res. 2018. № 59. P. 901–909.

70. Zhao H., Wang C., Zhao N. et al. Potential biomarkers of Parkinson's disease revealed by plasma metabolic profiling // J. Chromatogr B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2018. № 1081–1082. P. 101–108.

Поступила в редакцию 17.07.2019
После доработки 29.08.2019
Принята к публикации 10.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 948–958

O. Yu. Kytikova, T. P. Novgorodtseva, M. V. Antonyuk, T. A. Gvozdenko

PLASMALOGENES IN THE PATHOPHYSIOLOGY AND THERAPY OF AGE-SPECIFIC DISEASES

Vladivostok branch of the Far Eastern scientific center of physiology and pathology of breathing —
Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, 73 G Russkaya str., Vladivostok 690105,
e-mail: kytikova@yandex.ru

The pathogenesis of age-related diseases such as metabolic syndrome, type 2 diabetes, Parkinson's disease and Alzheimer's disease is associated with oxidative stress and chronic inflammation. Violation of redox homeostasis is accompanied by the development of peroxisome dysfunction and impaired biosynthesis of plasmalogens, which can be closely related to the aging process and the development of age-dependent pathology. Reflecting the functional activity of peroxisomes, plasmalogens can serve not only as potential biomarkers of diseases associated with oxidative stress and aging, but also as an important therapeutic target. The purpose of this review is to analyze the current knowledge of little-studied biological and pathological aspects of plasmalogen participation in the pathophysiology of neurodegenerative and metabolic diseases of older persons. Understanding the role of plasmalogens in the pathophysiology of these diseases can lead to the development of effective diagnostic and prognostic biomarkers, as well as treatment methods for neurodegenerative and metabolic diseases of older people.

Key words: *plasmalogens, aging, neurodegenerative diseases, metabolic diseases*

© О. В. Воробьева, А. А. Фомина, Н. Е. Гималдинова, 2019
Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 959–963
УДК 616.345-006.55-07-053.9

О. В. Воробьева[1], А. А. Фомина[2], Н. Е. Гималдинова[1]

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТУБУЛОВИЛЛЕЗНОЙ АДЕНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

[1] Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова, 428000, Чебоксары, Московский пр., 15,
e-mail: olavorobeva@mail.ru; [2] Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы, 428045, Чебоксары, ул. Пирогова, 24

Частота встречаемости тубуловиллезной аденомы превышает показатели колоректального рака. Вероятно, большая часть аденом склонна к малигнизации. Часто невозможно определить, какая аденома склонна к неоплазии. Однако увеличение размеров аденом и выраженная дисплазия способствуют малигнизации. Цель исследования — оценка клеточной пролиферации, апоптоза, β-катенина в тубуловиллезной аденоме толстой кишки с разной степенью дисплазии. Были использованы биоптаты тубуловиллезной аденомы 50 пациентов, подвергшихся эктомии. Аденомы после резекции разрезали по наибольшему размеру, чтобы в срез входила вся толща *tunicae mucosae*, *muscularis*. Для иммуногистохимических реакций применяли маркеры клеточной пролиферации (*Ki*-67), апоптоза (*P*-53), транскрипционного фактора (β-катенин). В тубуловиллезной аденоме с *low grade dysplasia* имеются невысокие показатели уровня клеточной пролиферации и апоптоза, расположенные преимущественно в базальных отделах желез. По мере увеличения степени дисплазии в эпителии желез нарастает клеточное деление и появляется ядерная экспрессия β-катенина. На фоне значимого повышения клеточной пролиферации выявлено небольшое число клеток в состоянии апоптоза. Таким образом, повышение показателей *Ki*-67 и β-катенина в тубуловиллезной аденоме при *high grade dysplasia* способствует ограничению дифференцировки клеток, нарушает межклеточные контакты.

Ключевые слова: дисплазия, полип, толстая кишка

Колоректальный рак является одним из чаще всего встречающихся онкологических заболеваний, а механизмы канцерогенеза и возможная роль аденом толстой кишки в нем остаются неизвестными, особенно у лиц пожилого возраста [10]. Как клинические, так и специальные исследования показали, что сочетание рака и аденом толстой кишки во многих случаях не может считаться случайным совпадением. Чаще их наличие выясняется случайно при профилактическом осмотре или во время лечения других патологий ЖКТ.

Одним из подобных новообразований является тубуловиллезные аденомы толстой кишки, часто незаметно возникает злокачественное перерождение эпителия в аденоме, что предшествует развитию рака толстой кишки. Поэтому важно вовремя обнаружить те состояния, которые предшествуют злокачественному росту клеток, прежде всего разных видов дисплазии. Трудность в постановке диагноза заключается в том, что очень часто внешне аденомы толстой кишки оказываются неизмененными и только при тщательном гистологическом исследовании обнаруживаются признаки тяжелой степени дисплазии с фокусами или даже участками рака в аденоме. Работы, посвященные изучению предопухолевых изменений толстой кишки, недостаточно полно освещены. В бóльшей степени описаны новые подходы к классификации гиперпластических, зубчатых образований толстой кишки [3, 5, 6]. Цель исследования — оценка разной степени дисплазии в тубуловиллезной аденоме толстой кишки с помощью комплекса иммуногистохимических методов.

Материалы и методы

В работе использован операционный материал от 50 пациентов (женщины) 60–70 лет с тубуловиллезной аденомой толстой кишки. Эксперименты проведены с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» и в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации». Аденомы после резекции разрезали таким образом, чтобы в срез входила вся толща *tunicae mucosae*, *muscularis*. С парафиновых блоков готовили срезы, толщина которых составила 4 мкм, затем наносили их на высокоадгезивные предметные стекла. Депарафинирование и регидратацию материала,

демаскировку антигенов проводили в модуле предобработки («Thermo», Великобритания) с использованием буферного раствора Dewax and HIER Buffer L 61 (*pH* 6,0) 20 мин при температуре 95–98°С. Иммуногистохимические реакции проводили в автоматизированном режиме с использованием «Thermo Scientific Lab Vision Autostainer 480S» («Thermo», Великобритания). Время инкубации с первичными антителами составило 20 мин, использовали положительный и отрицательный контроль. Детекцию проводили с применением *DAB*-хромогена в составе «EnVision Flex» («Dako», Дания). Микропрепараты изучали с помощью микроскопа «Leica DM 4000B» и программы Leica Application Suite 8.0. Использовали моноклональные антитела к маркеру *Ki*-67, *P*-53, β-катенину (*табл. 1*).

Морфометрические измерения интенсивности иммуногистохимических реакций проведены с помощью программы ImmunoRatio (http://imtmicroscope.uta.fi/immunoratio/). За единицу площади, относительно которой проводили сравнительную оценку изменений срезов, был принят кл/1 мм^2, ув. 400 [1]. Оценку экспрессии *Ki*-67 проводили по общепринятой методике путем подсчета среднего количества положительно окрашенных ядер в трех криптах, расположенных в разных отделах среза (ув. 400), %. Статистическая обработка проведена по непараметрическому критерию Манна—Уитни ($p<0,05$). Сравнение нескольких зависимых переменных оценивали с помощью рангового двухфакторного анализа (ДА) Фридмана и конкордации Кендалла.

Таблица 1

Иммуногистохимические параметры

Белок	Клон антител	Разведение	Буфер, *pH*	Производитель
Ki-67	*MIB*1	*RTU*	6,0	«Dako»
P-53	*DO*-7	*RTU*	8,0	«
β-катенин	β-Catenin-1	*RTU*	8,0	«

Результаты и обсуждение

В работе использовали материал тубуловиллезной аденомы, представляющий собой новообразование с участками тубулярных и виллезных структур, возвышающиеся над поверхностью слизистой оболочки на широком основании.

Иммуногистохимическая реакция на маркер Ki-67. В аденоме с *low grade dysplasia* определяли разных размеров и формы тубулярные и виллезные структуры, имеющие в базальных отделах желез умеренное число *Ki*-67-позитивных ядер. При *high grade dysplasia* отмечали выраженные нарушения в строении аденомы, определяли участки железистой пролиферации и наиболее выраженную ядерную реакцию на *Ki*-67 (*рис. 1*, см. табл. 1).

Таким образом, при сравнительном анализе результатов с помощью рангового ДА Фридмана и конкордации Кендалла выявлено значимое увеличение показателей экспрессии *Ki*-67 при *high grade dysplasia* (*табл. 2*).

Иммуногистохимическая реакция на маркер P-53. В аденомах с *low grade dysplasia* ядерная реакция на маркер *P-53* в тубуловиллезных структурах имела неравномерное дискретное расположе-

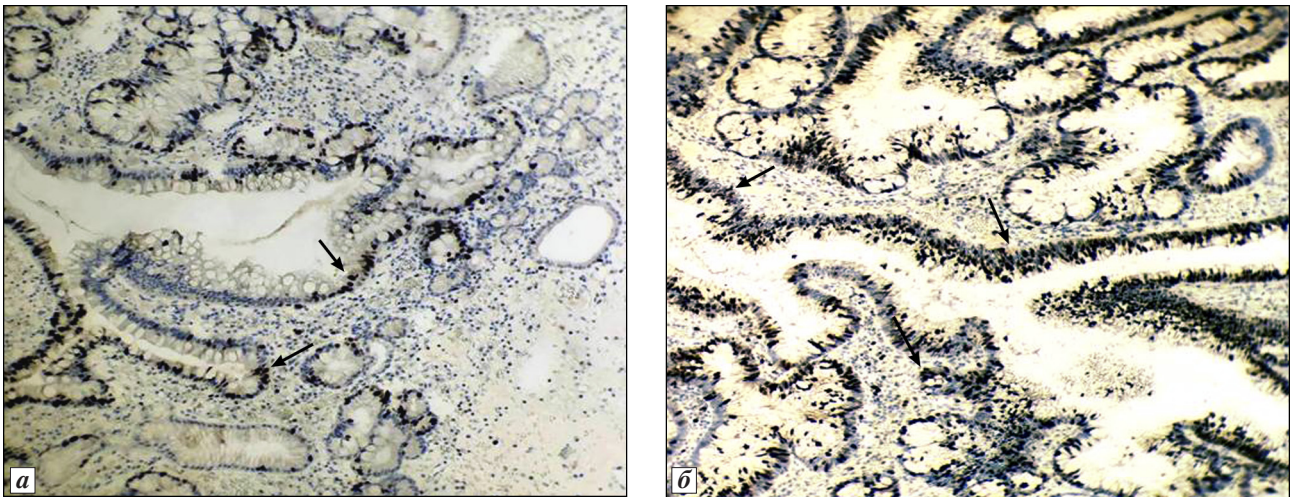


Рис. 1. Фрагмент из тубуловиллезной аденомы:

а — эпителий желез с low grade dysplasia; б — эпителий желез с high grade dysplasia. Положительная ядерная экспрессия Ki-67 эпителиоцитов базальных отделов желёз. Иммуногистохимическая реакция на маркер Ki-67. Ув. 400 (об. 40; ок. 10)

Таблица 2

Экспрессия *Ki*-67 в эпителии желез тубуловиллезной аденомы

Степень дисплазии	Средний ранг	Сумма рангов	Среднее	Стандартное отклонение
Low grade dysplasia	2,000000	100,0000	42,00000	1,385051
High grade dysplasia	3,000000	150,0000	65,90000	1,265718

Таблица 3

Экспрессия *P*-53 в эпителии желез тубуловиллезной аденомы

Степень дисплазии	Средний ранг	Сумма рангов	Среднее	Стандартное отклонение
Low grade dysplasia	1,080000	54,0000	3,420000	1,011969
High grade dysplasia	1,920000	96,0000	5,460000	1,091900

ние (*табл. 3*), при *high grade dysplasia* выявляли аналогичные изменения в показателях.

При ранговом ДА Фридмана и конкордации Кендалла выявлены незначительные показатели экспрессии маркера *P-53* между разными степенями дисплазии (см. табл. 3).

Иммуногистохимическая реакция на маркер β-катенин. В аденоме с *low grade dysplasia* экспрессия клеток была незначительная, при *high grade dysplasia* выявлена высокая ядерная реакция на транскрипционный фактор (*рис. 2, табл. 4*).

Таким образом, совокупные данные полученных результатов можно отобразить в *табл. 5*.

Учитывая, что частота встречаемости тубуловиллезной аденомы превышает показатели колоректального рака, очевидно, что большинство аденом может перерождаться в рак, особенно часто у лиц пожилого возраста [3]. Часто невозможно определить, какая аденома склонна к малигнизации. Однако увеличение размеров аденом и выраженная дисплазия способствуют малигнизации [5]. В связи с этим проведено изучение разных степеней дисплазии в эпителии желез тубуловиллезной аденомы у лиц пожилого возраста.

При анализе полученных данных выявлено, что в тубуловиллезной аденоме по мере увеличе-

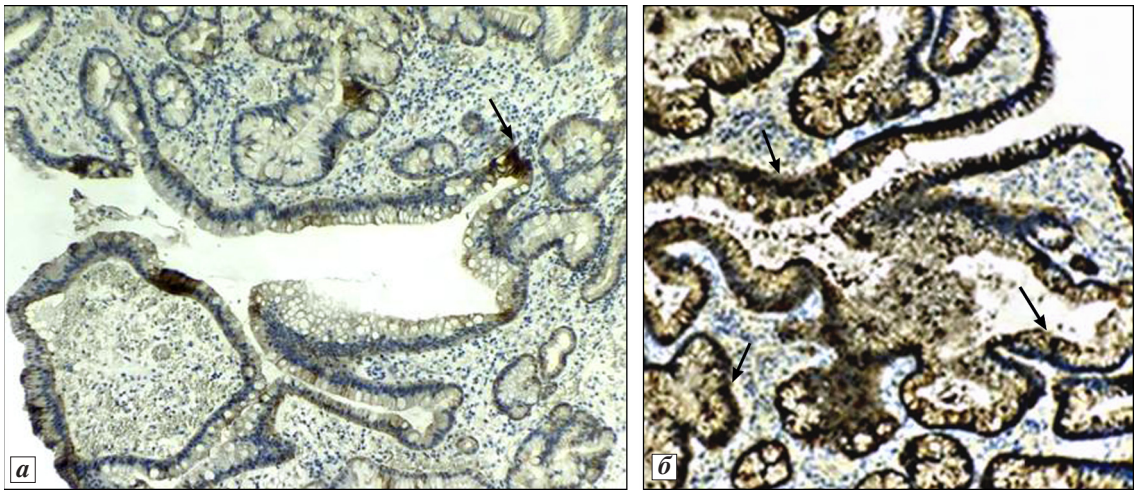


Рис. 2. Фрагмент из тубуловиллезной аденомы:

а — эпителий желез с low grade dysplasia; б — эпителий желез с high grade dysplasia. Положительная ядерная экспрессия β-катенина эпителиоцитов базальных отделов желёз. Иммуногистохимическая реакция на β-катенин. Ув. 400 (об. 40; ок. 10)

Таблица 4

Экспрессия β-катенина в эпителии желез тубуловиллезной аденомы

Степень дисплазии	Средний ранг	Сумма рангов	Среднее	Стандартное отклонение
Low grade dysplasia	1,000000	50,0000	9,94000	1,777524
High grade dysplasia	2,000000	100,0000	43,40000	1,726149

Таблица 5

Иммуногистохимические маркеры при разной степени дисплазии

Структура	Степень дисплазии	*Ki*-67		*P*-53		β-катенин	
		индекс, %	число клеток, кл/1 мм^2	экспрессия, %	число клеток, кл/1 мм^2	экспрессия, %	число клеток, кл/1 мм^2
Тубулярная	*low grade dysplasia*	42	110,2±0,1	2	5,25±0,1	4	10,5±0,1
	high grade dysplasia	66*	173,2±0,1*	4	10,5±0,1*	30*	78,7±0,1*
Виллезная	*low grade dysplasia*	98	257,2±0,3	5	13,1±0,1	10	26,2±0,1
	high grade dysplasia	105*	275,6±0,3*	6	15,7±0,1*	43*	112,9±0,1*

* Уровень статистической значимости различий по отношению к *low grade dysplasia*, $p<0,05$.

ния диспластических изменений происходит повышение числа ядер клеток, позитивных на данный маркер. Согласно литературным данным, маркер *Ki*-67 характеризует пролиферативную активность клеток, отмечен во всех фазах клеточного деления (*G*1, *S*, *G*2 и митоз), за исключением фазы покоя (*G*0) [4, 8, 9]. Таким образом, те участки, где отмечается наиболее выраженное клеточное деление, обладают наибольшей пролиферативной активностью. На фоне значимого повышения клеточной пролиферации выявлено небольшое число клеток в состоянии апоптоза. Как известно, апоптоз принадлежит к одному из основных механизмов, вызывающих гибель клеток [8], то есть по мере увеличения степени дисплазии возникает преобладание клеточного деления над гибелью клеток.

β-катенин является транскриптационным фактором, ограничивает дифференцировку клеток и является важным в онкогенезе аденома-карцинома [2, 7]. Данные некоторых авторов противоречивы, одни утверждают, что в гиперпластических, зубчатых полипах данный маркер повышается в 50–67 % случаев [5, 10], другие склонны к незначительным изменениям [2, 6]. Впервые мы выявили, что в тубуловиллезной аденоме позитивная ядерная реакция на β-катенин появляется в эпителии желез аденомы с *high grade dysplasia*.

Заключение

Таким образом, по мере увеличения степени дисплазии возрастает клеточная пролиферация и появляется ядерная реакция на маркер β-катенин.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения своевременной эктомии для предотвращения ущерба здоровью пациента, что позволит достичь снижения показателей смертности от колоректального рака.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990.
2. *Исаева А.В., Зима А.П., Шабалова И.П.* β-Катенин: структура, функции и роль в опухолевой трансформации эпителиальных клеток // Вестн. РАМН. 2015. Т. 70. № 4. С. 475–483.
3. *Кононов А.В.* Интерпретация понятия дисплазия/интраэпителиальная неоплазия в международных классификациях опухолей пищеварительного тракта // Арх. пат. 2005. Т. 67. № 6. С. 44–48.
4. *Крисченко Т.А.* Сравнительная иммуногистохимическая характеристика экспрессии Ki-67, p53, каспазы-3 в гиперпластических полипах и неинвазивной аденокарциноме желудка кишечного типа // Запорож. мед. журн. 2008. Т. 2. № 1–5. С. 29–39.
5. *Михалева Л.М., Комлева Р.А., Бирюков А.Е.* Зубчатые аденомы толстой кишки: клинико-морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика // Арх. пат. 2017. Т. 79. № 1. С. 19–27.
6. *Харлова О.А., Олейникова Н.А., Мальков П.Г.* Новые подходы к классификации зубатых образований толстой кишки // Соврем. пробл. науки и образования. 2018. № 2. url: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27471
7. *Bourroul G.M. et al.* The destruction complex of beta-catenin in colorectal carcinoma and colonic adenoma // Einstein (Sao Paulo). 2016. Vol. 14. № 2. P. 135–142.
8. *Li X.L., Zhou J., Chen Z.R.* P53 mutations in colorectal cancer — molecular pathogenesis and pharmacological reactivation // Wld J. Gastroenter. 2015. Vol. 21. №1. P. 84–93.
9. *Nussrat F.L., Hussam H.A., Raghad J.A.* Immunohistochemical Expression of ki-67 and p53 in Colorectal Adenomas: A Clinicopathological Study // Oman Med. J. 2011. Vol. 26. № 4. P. 229–234.
10. *Rubio C.A., Schmidt P.T.* Are Non-dysplastic Crypts with Corrupted Shapes the Initial Recordable Histological Event in the Development of Sporadic Conventional Adenomas // Anticancer Res. 2018. Vol. 38. № 9. P. 5315–5320. doi: 10.21873/anticanres.12858

Поступила в редакцию 02.05.2019
После доработки 01.10.2019
Принята к публикации 07.10.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 959–963

O. V. Vorobeva [1], *A. A. Fomina* [2], *N. E. Gimaldinova* [1]

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF TUBULOVILLOSIS ADENOMA TUBULOVILLOUS INTESTINAL ADENOMA IN THE ELDERLY

[1] I. N. Ulianov Chuvash State University, 15 Moskovsky pr., Cheboksary 428000, e-mail: olavorobeva@mail.ru;
[2] Republican Bureau of Forensic Medicine, 24 Pirogova str., Cheboksary 428045

Frequency indices of tubulovillous adenoma are higher than the ones of colorectal cancer, and probably, the majority of adenomas are prone to malignancy. It is often impossible to determine which adenoma tends to tumorous neoplasia. However, increase in the adenomas and expressed dysplasia contribute to adenomas malignant transformation. In this regard, the purpose of the study is to evaluate cellular proliferation, apoptosis, beta-catenin in tubulovillous intestinal adenomas with varying degrees of dysplasia. The study used biopsy materials of tubulovillous adenomas obtained from 50 patients who underwent ectomy. After resection the adenomas were cut by the maximum size for the full thickness of tunicae mucosae, muscularis be included into the section. Immunohistochemical reactions used a cellular proliferation marker (*Ki*-67), that of apoptosis (*P*-53), of a transcription factor (β-catenin). In tubulovillous adenomas with the *low grade dysplasia* degree there are low indicators of cellular proliferation and apoptosis, located primarily in basal glandular segments. As dysplasia degree increases, cellular division in the glandular epithelium intensifies and nuclear expression of beta-catenin appears as well. Against the background of a meaningful increase in cellular proliferation, a small number of cells in apoptotic condition are revealed. Thus, increased indicators of *Ki*-67 and β-catenin in a tubulovillous adenomas in *high grade dysplasia* contributes to limiting cellular differentiation, violates intercellular contacts.

Key words: *dysplasia, adenomas, large intestine*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 613.166:612.13-053

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 964–975

Н. В. Кузьменко[1, 2], М. Г. Плисс[1, 2], М. М. Галагудза[1, 2], В. А. Цырлин[1]

ВОЗДЕЙСТВИЕ ГИПЕР- И ГИПОТЕРМИИ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ У ЛЮДЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП: МЕТААНАЛИЗ

[1] Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2, e-mail: nat.kuzmencko2011@yandex.ru; [2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Возрастные изменения в терморегуляции возникают из-за ухудшения адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы, вызванных ремоделированием сосудистой стенки и миокарда, уменьшением плотности капилляров, изменениями в синтезе и клиренсе нейротрансмиттеров и вазоактивных веществ, а также угнетением вегетативных механизмов регуляции параметров гемодинамики. Распространенным способом моделирования гипер- и гипотермических условий является использование костюма с трубками для заполнения водой с различной температурой. Цель работы — проведение метаанализа сдвигов параметров гемодинамики при моделировании гипер- и гипотермии с использованием такого костюма у людей разных возрастных групп. Было установлено, что нагревание всего тела сопровождается снижением уровня АД и увеличением ЧСС. Реакция параметров гемодинамики на гипертермию существенно не изменяется при старении. Охлаждение всего тела сопровождается увеличением уровня АД без изменения ЧСС. При гипотермии амплитуда подъема САД больше у людей пожилого возраста.

Ключевые слова: гипертермия, гипотермия, артериальное давление, частота сердечных сокращений, возрастные изменения

Терморегуляторная функция организма человека направлена на поддержание на постоянном уровне (около 37 °С) температуры ядра (внутренней температуры). Отсутствие густого волосяного защитного покрова и наличие потовых желез вносит существенные изменения в терморегуляцию людей по сравнению с другими млекопитающими. Сосудистая сеть кожи является основным эффектором терморегуляторных рефлекторных реакций человека. При воздействии холода сужение кровеносных сосудов с последующим снижением перфузии кожи способствует поддержанию температурного гомеостаза за счет уменьшения потерь тепла в окружающую среду. При нагревании температурный гомеостаз поддерживается путем расширения сосудов кожи, что обеспечивает передачу избыточного тепла к поверхности тела, где оно может быть удалено путем охлаждения при испарении пота [25, 40].

Основной центр терморегуляции находится в гипоталамусе (преоптическая область), туда направляются сигналы с терморецепторов, расположенных на (в) коже и в более глубоких тканях, что позволяет тонко модулировать перераспределение кровотока между кожей и внутренними органами посредством изменения активности симпатической нервной системы в ответ на колебания амбиентной и внутренней температуры [1]. Изменение кровотока в коже во время терморегуляторных рефлексов осуществляется двумя ветвями симпатической нервной системы — адренергической вазоконстрикторной и холинергической, регулирующей вазодилатацию и потоотделение [1, 25, 32, 40]. Кроме того, в сужении сосудов кожи участвуют котрансмиттеры — нейропептид *Y* и аденозинтрифосфат [70], а вазодилатация частично опосредуется пептидами [вазоактивным кишечным (котрансмиттер ацетилхолина) и пептидом, генетически родственным кальцитонину] [7, 40], а также оксидом азота [39].

В условиях гипертермии интенсивность кровотока в сосудах кожи может возрастать до 30 % [1], при этом увеличивается минутный объем кровообращения, а также снижаются центральное венозное давление, давление в легочной артерии и легочных капиллярах и центральный объем крови. Ударный объем при гипертермии или не изменяется, или слегка возрастает [75]. Поддержание ударного объема в момент, когда давление наполнения ЛЖ снижается, связано с увеличением сократимости сердца [75].

Было установлено, что тахикардия в условиях теплового стресса на 40 % вызвана повышением температуры сердца (в результате чего сокра-

щается продолжительность потенциалов действия и увеличивается проводимость щелевого контакта между кардиомиоцитами), а на 60 % связана с деятельностью вегетативной нервной системы [13]. В итоге, при гипертермии отмечается понижение АД и увеличение ЧСС. Есть также предположение, что при тепловом стрессе уровень АД снижается и вследствие повышенного потоотделения, вызывающего гиповолемию и потерю *Na*+. Однако эксперименты с нагреванием всего тела показали, что инфузия физиологического раствора восстанавливает центральное венозное давление, но не оказывает существенного влияния на сдвиг параметров гемодинамики при тепловом стрессе [12, 36]. Охлаждение всего тела, которое не вызывает дрожи, не приводит к значительным изменениям минутного объема кровообращения и ударного объема, но увеличивает общее периферическое сопротивление сосудов, центральное венозное давление, давление в капиллярах легких, центральный объем крови, а также АД [25, 75].

Возрастные изменения в терморегуляции возникают по причине ухудшения адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы, вызванных ремоделированием сосудистой стенки (развитие артериальной ригидности и атеросклероз) и миокарда [9, 33, 68], уменьшением минутного объема кровообращения [50], снижением плотности капилляров [4], изменениями в синтезе и клиренсе нейротрансмиттеров и вазоактивных веществ, а также нарушениями вегетативных механизмов регуляции [25], в частности угнетением барорецепторного рефлекса [51], которое приводит к увеличению активности симпатической нервной системы [14, 20, 23, 25, 64].

Было установлено, что с возрастом увеличивается уровень норадреналина и эндотелина-1 [16, 20, 64], постепенно развивается холинергический дефицит [61], снижается биодоступность оксида азота [77], уменьшается количество котрансмиттеров, участвующих в вазоконстрикции и вазодилатации [70]. Также есть сообщения о локальном увеличении концентрации ангиотензина II при старении [44]. В среднем здоровые люди 60–90 лет демонстрируют ослабление кожного кровотока на 25–50 % по сравнению с людьми 18–30 лет [32]. Так, при тепловом стрессе потоотделение у пожилых людей существенно меньше, чем у молодых [14]. Это делает пожилых мужчин и женщин более восприимчивыми к колебаниям температуры окружающей среды. Гипер- и гипотермия могут вызвать у пожилых людей, имеющих повышенную активность симпатической нервной системы и меньшую эластичность кровеносных сосудов, более существенные сдвиги параметров гемодинамики, чем у молодых субъектов. Кроме того, показано, что с возрастом ухудшается вазодилатация коронарных сосудов, в результате чего при колебаниях амбиентной температуры миокард может испытывать нехватку кислорода, что увеличивает риск инфаркта [21]. Возрастные нарушения церебрального кровообращения в условиях изменения перфузии головного мозга при гипер- и гипотермии могут спровоцировать обмороки и инсульты [13].

К настоящему времени проведены многочисленные экспериментальные и клинические исследования влияния пассивного нагревания и охлаждения всего тела на функционирование сердечно-сосудистой системы. В этих работах температурное воздействие моделировалось различными способами: при помощи сауны (криосауны) [3, 15], охлаждения и обогрева помещения [8, 10, 35, 42, 72], при помощи специальных камер с определенным микроклиматом [17, 43], использования ванны с разной температурой воды [37, 53, 54], а также при помощи специального водонепроницаемого костюма с трубками, которые заполнялись водой с разной температурой.

В настоящей работе представлены результаты проведенного нами метаанализа публикаций, посвященных изучению влияния гипер- и гипотермии, создаваемой при помощи изменения температуры воды в костюме, на параметры гемодинамики у людей разных возрастных групп. Именно результаты исследований с использованием перфузированного костюма были отобраны нами для метаанализа по причинам:

1) большого количества публикаций результатов экспериментов с использованием данного метода;

2) максимального единообразия в проведении эксперимента различными группами исследователей с минимальным температурным разбросом (не более 4 °C);

3) изменение температуры воды в костюме оказывает минимальное влияние на температуру воздуха в помещении, а следовательно, существенно не изменяет парциальную плотность кислорода в воздухе;

4) поскольку вода внутри костюма создает температурный градиент, но не касается непосредственно кожи, гидростатическое давление,

вызывающее центральное вытеснение жидкости, отсутствует (в отличие от погружения тела непосредственно в воду);

5) подобным способом можно моделировать как гипертермию, так и гипотермию.

Материалы и методы

При поиске публикаций в базе PubMed по запросу «whole-body heating humans» была найдена 341 публикация (из них 31 обзор литературы), а по запросу «whole-body cooling humans» — 441 публикация (из них 55 обзоров литературы). В итоге, для метаанализа было отобрано 10 публикаций, посвященных сравнению изменения параметров гемодинамики в разных возрастных группах практически здоровых людей при воздействии гипер- или гипотермии с использованием перфузированного костюма (*рис. 1, таблица*). Пол добровольцев, участвующих в исследовании, не учитывали. Гипер- и гипотермические условия создавали путем перфузии воды разной температуры. Для нормотермического контроля температура воды составляла в среднем 34 °С, при гипертермии — в среднем 48 °С, при гипотермии — в среднем 15 °С (см. таблицу).

Описание протокола проведения исследований во всех публикациях было стандартным. За 24 ч до начала эксперимента участники должны были воздержаться от каких-либо препаратов, кофеина, алкоголя и интенсивной физической нагрузки. Исследования проходили в помещении при комнатной температуре (приблизительно 25 °С). На добровольцев одевали костюм так, что голова, руки (предплечья) и нижние части ног оставались свободными. Во время экспериментов добровольцы лежали на спине. При помощи манометра на плечевой артерии измеряли параметры гемодинамики сначала при нормотермии, затем при гипер- или гипотермии. Параметры гемодинамики регистрировали при достижении плато изменений температуры кожных покровов или сублингвальной температуры. При нормотермии температура кожных покровов составляла в среднем 34–35,5 °С, при гипертермии — 38 °С, при гипотермии — 31 °С (см. таблицу). Температуру кожи вычисляли как среднее значение показаний термочувствительных элементов, прикрепленных к коже различных частей тела. Температуру ядра измеряли с помощью системы телеметрии при приеме внутрь таблетки (HTI Technologies, Palmetto, FL, США) или с помощью термопары, помещенной в подъязычную борозду, пищевод или прямую кишку. Отбор публикаций для метаанализа осуществляли с учетом температуры перфузируемой воды и/или изменения температуры кожных покровов.

Из выбранных публикаций извлекали информацию об изменении внутренней температуры (°С), среднего АД (мм рт. ст.), САД (мм рт. ст.), ДАД (мм рт. ст.) и ЧСС (уд/мин). Если в публикации не было информации о среднем АД, его рассчитывали по формуле АД=0,33·(САД–ДАД)+ДАД [59]. При метаанализе данных учитывали возраст добровольцев, участвующих в исследовании.

Метаанализ проводили при помощи статистической программы Review Manager 5.3 (Cochrane Library) [27], результаты представлены в виде «forest» диаграмм. В диаграммах: *Mean* — среднее значение; *SD* — стандартное отклонение; *Total* — количество людей в группе;

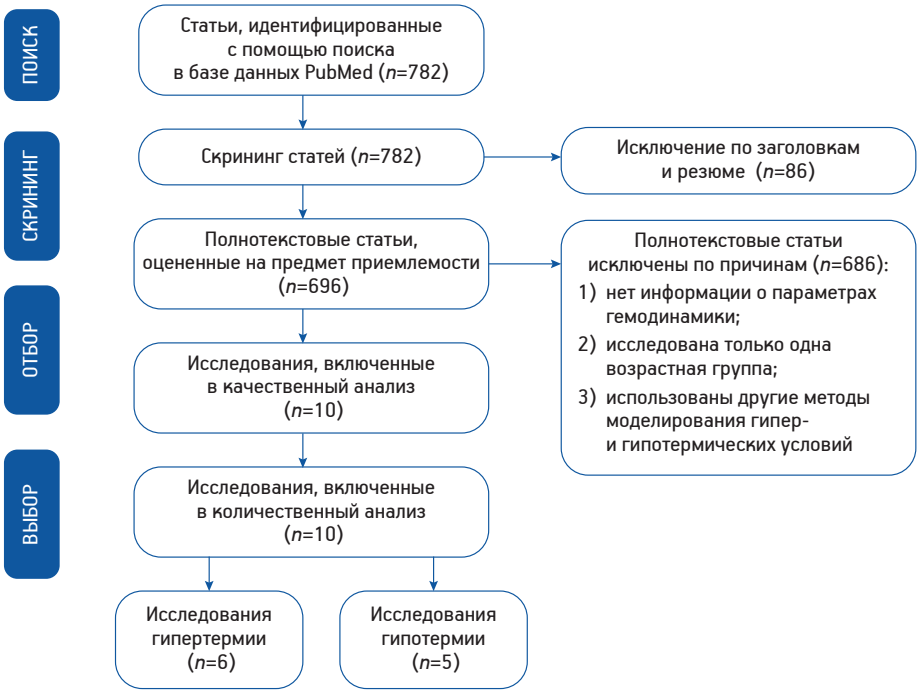


Рис. 1. Блок-схема в соответствии с Рекомендательными предписаниями для системных обзоров и метаанализов (http://prisma-statement.org/)

Публикации, включенные в метаанализ

Публикация	Температурное воздействие	Средний возраст участников исследования, *M±SD* (лет)
J. Cui и соавт., 2017 [14]	Гипертермия ($t_{воды}$=46 °C, $t_{кожи}$=38 °C)	24±4 и 61±7
D. Gagnon и соавт., 2015 [20]	Гипертермия ($t_{воды}$=46 °C, $t_{кожи}$=38,5 °C)	28±4 и 70±5
R. A. Lucas и соавт., 2008 [47]	Гипертермия ($t_{воды}$=48 °C)	29±4 и 70±4
Z. J. Schlader и соавт., 2015 [62]	Гипертермия ($t_{воды}$=48 °C, $t_{кожи}$=38,3 °C)	30±4 и 69±5
G. Scremin и соавт., 2004 [63]	Гипертермия ($t_{кожи}$=38 °C) Гипотермия ($t_{кожи}$=30 °C)	22±2 и 69±5
A. E. Stanhewicz и соавт., 2016 [65]	Гипертермия ($t_{воды}$=52 °C, $t_{кожи}$=39 °C)	23±4 и 67±7
Z. Gao и соавт., 2012 [21]	Гипотермия ($t_{воды}$=15 °C, $t_{кожи}$=31 °C)	25±3 и 65±6
J. L. Greaney и соавт., 2014 [23]	Гипотермия ($t_{кожи}$=30,5 °C)	23±3 и 60±7
J. A. Lang и соавт., 2017 [45]	Гипотермия ($t_{кожи}$=30,5 °C)	24±1 и 68±4
T. E. Wilson и соавт., 2010 [76]	Гипотермия ($t_{воды}$=15 °C, $t_{кожи}$=31 °C)	28±7 и 64±10

Weight — средневзвешенный вклад исследования; *Mean Difference* — средняя амплитуда различий между группами. Для анализа изменений был использован Inverse Variance-тест. Гетерогенность включенных в метаанализ исследований устанавливали по критерию I^2. При низкой степени гетерогенности ($I^2 \leqslant 25\,\%$) рекомендовано использовать модель фиксированных эффектов (fixed-effect model), при высокой гетерогенности ($I^2 \geqslant 75\,\%$) — модель случайных эффектов (random-effect model) [58]. Критерий Chi^2 использовали в модели фиксированных эффектов, критерий Tau^2 оценивал связь между дисперсией в модели случайных эффектов. Для оценки статистической значимости суммарных результатов применяли *Z*-тест. Доверительный интервал — 95 %. Различия считали статистически значимыми при $p<0{,}05$. В тексте данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили).

Результаты и обсуждение

Известно, что в течение суток температура ядра тела человека может изменяться на ±0,6 °C, повышение температуры ядра на 1 °C вызывает активное потоотделение, а снижение температуры ядра провоцирует дрожь [1]. Проведенный нами метаанализ показал, что повышение температуры кожи на 4 °C вызывает подъем температуры ядра в среднем на 0,8 °C у лиц любого возраста (*рис. 2*), а понижение температуры кожи на 4 °C существенно не изменяет внутреннюю температуру (*рис. 3*), то есть в рассмотренных экспериментах исследовали воздействие умеренного нагревания и охлаждения.

При метаанализе нами было установлено, что умеренные гипер- и гипотермия вызывают изменения параметров гемодинамики как у молодых, так и у пожилых людей.

Метаанализ показал, что нагревание всего тела сопровождается снижением уровня среднего АД на 5,1 (3,1; 7,1) мм рт. ст., $p<0{,}00001$, главным образом за счет падения уровня ДАД, которое уменьшается на 7 (5,3; 8,6) мм рт. ст., $p<0{,}00001$ (*рис. 4, 5, 6*). Это является закономерным следствием расширения сосудов кожи при нагревании. Также при гипертермии наблюдали значительную тахикардию, ЧСС увеличивалась на 23,6 (17,5; 29,8) уд/мин, $p<0{,}00001$ (*рис. 7*).

Метаанализ не выявил значимых различий в амплитуде параметров гемодинамики у молодых и возрастных добровольцев в ответ на нагревание всего тела (см. рис. 4–7), отмечали лишь тенденцию ($p=0{,}06$) уменьшения амплитуды ДАД и ЧСС у пожилых людей (см. рис. 6, 7). Однако исследования J. L. Greaney и соавт. показали, что при динамических упражнениях различия в реакции САД, ДАД и ЧСС на гипертермию у молодых и пожилых людей увеличивались [24]. Сдвиги параметров гемодинамики, вызванные нагреванием всего тела с использованием перфузируемого костюма, сохранялись и через 60 мин после нормализации амбиентной температуры [57]. Это, возможно, объясняется повышением концентрации оксида азота и снижением констрикторных свойств сосудов после нагревания всего тела [28, 39].

При других способах моделирования гипертермии изменения параметров гемодинамики могли быть иными. В экспериментах с моделированием гипертермии путем изменения амбиентной тем-

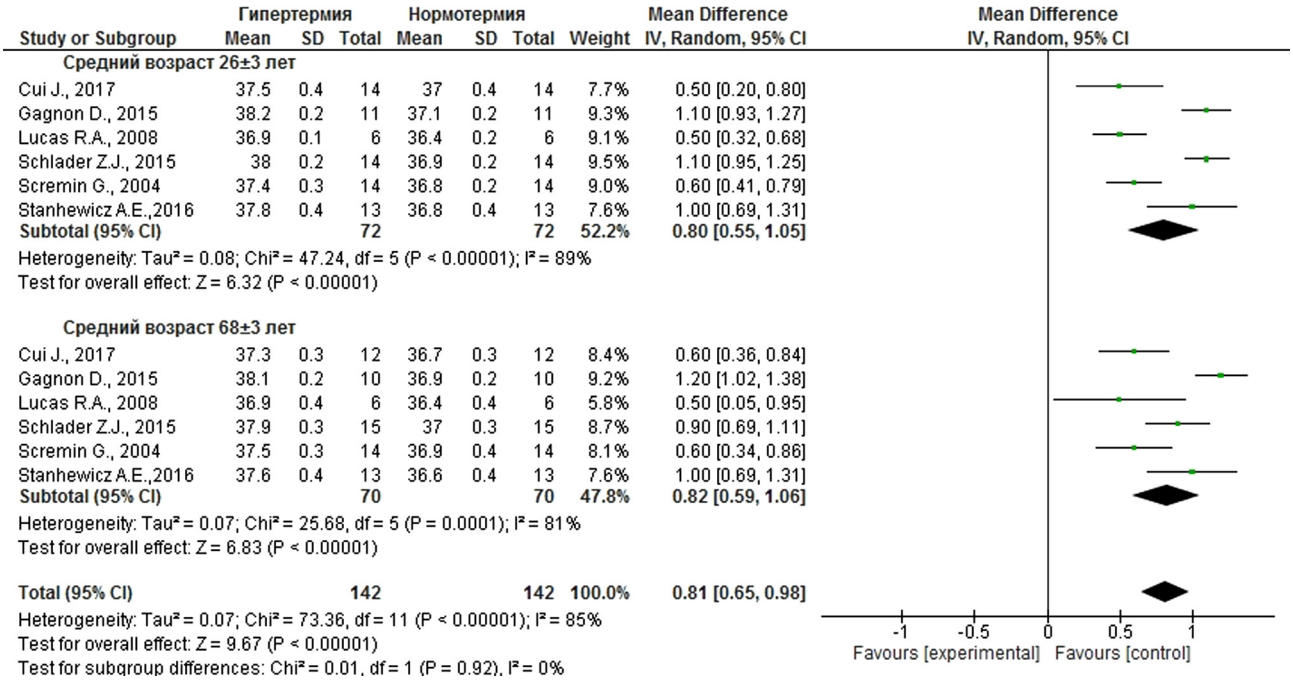


Рис. 2. Влияние гипертермии на температуру ядра, °C

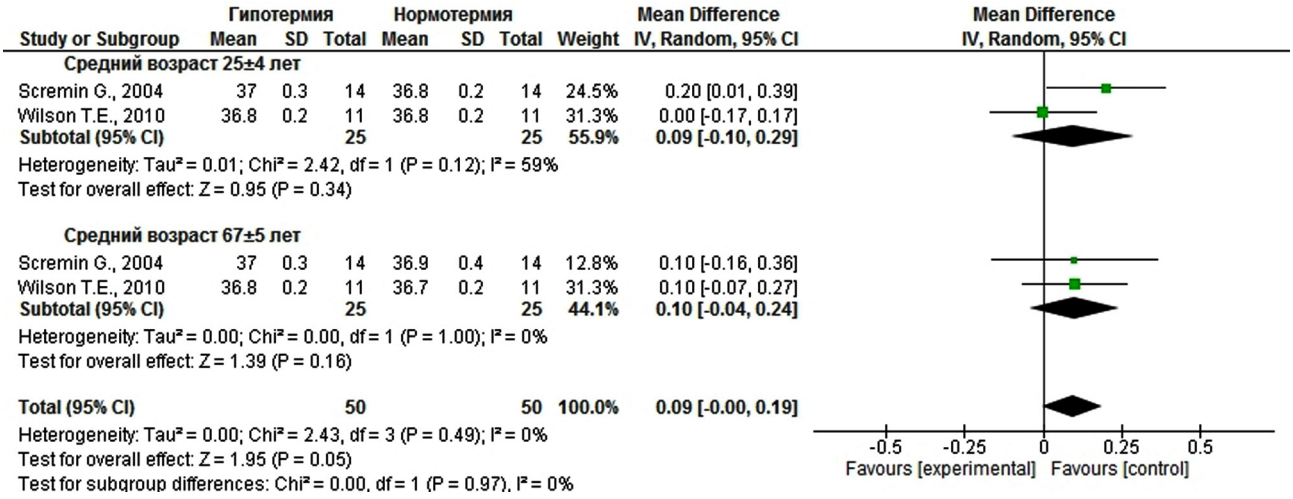


Рис. 3. Влияние гипотермии на температуру ядра, °C

пературы в помещении АД не изменялось, ЧСС увеличивалась [8, 42], а амплитуда параметров была схожа у молодых и пожилых добровольцев [42]. Экстремальная гипертермия в условиях сауны ($t_{воздуха}$=100 °C) вызывала увеличение АД [3]. Также эпизоды подъема АД наблюдали у пожилых людей при принятии горячей ванны ($t_{воды}$=40 °C), у молодых людей при принятии ванны АД либо не изменялось, либо понижалось [37, 53, 54].

Проведенный нами метаанализ показал, что охлаждение всего тела вызывает существенный подъем среднего АД (*рис. 8*). При этом САД увеличивается на 9 (5,6; 12,4) мм рт. ст., p<0,00001 (*рис. 9*), а ДАД — на 4,8 (2,6; 7) мм рт. ст., p<0,0001 (*рис. 10*), в то же время ЧСС остается без изменений (*рис. 11*). Увеличение АД при гипотермии связано с увеличением центрального объема крови в результате сужения сосудов кожи. Амплитуда колебаний САД при гипотермии была больше у пожилых добровольцев по сравнению с молодыми [16,8 (10,3; 23,3) мм рт. ст. и 6,1 (2,1; 10,1) мм рт. ст., p=0,006, см. рис. 9]. При этом реакция ДАД и ЧСС не различалась у людей разных возрастных групп (см. рис. 10, 11). Похожие результаты были получены в ходе

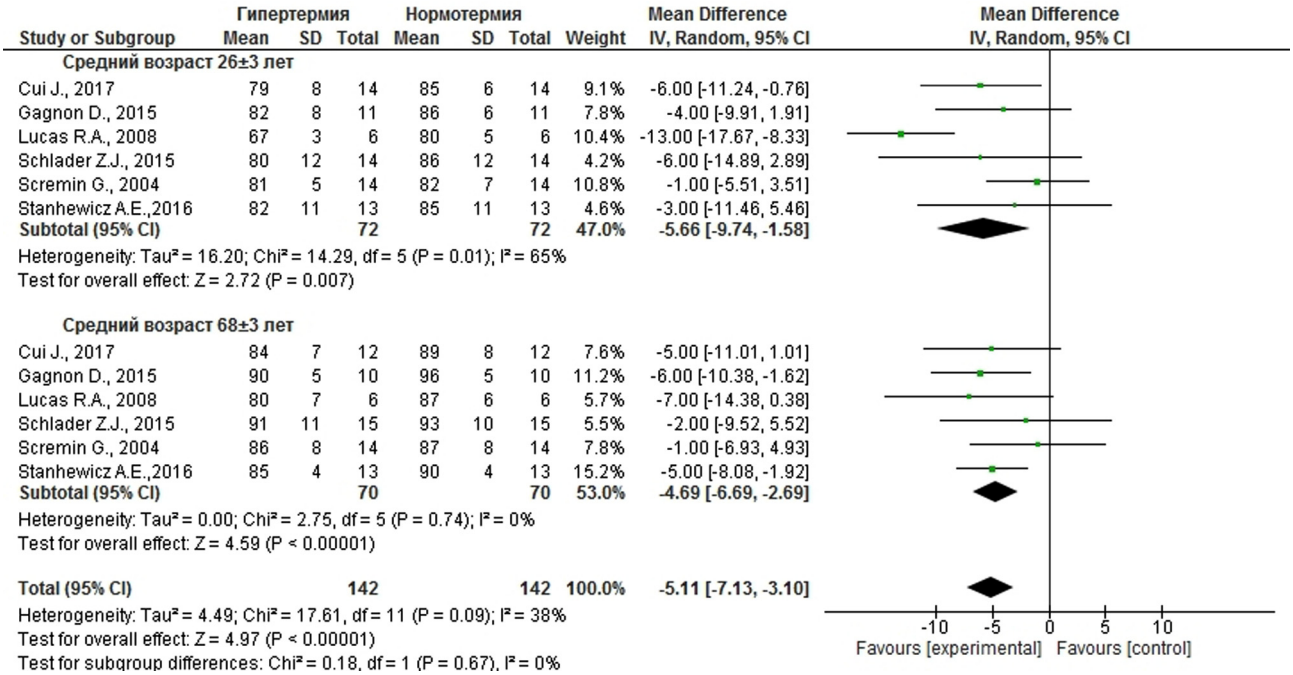


Рис. 4. Влияние гипертермии на среднее АД, мм рт. ст.

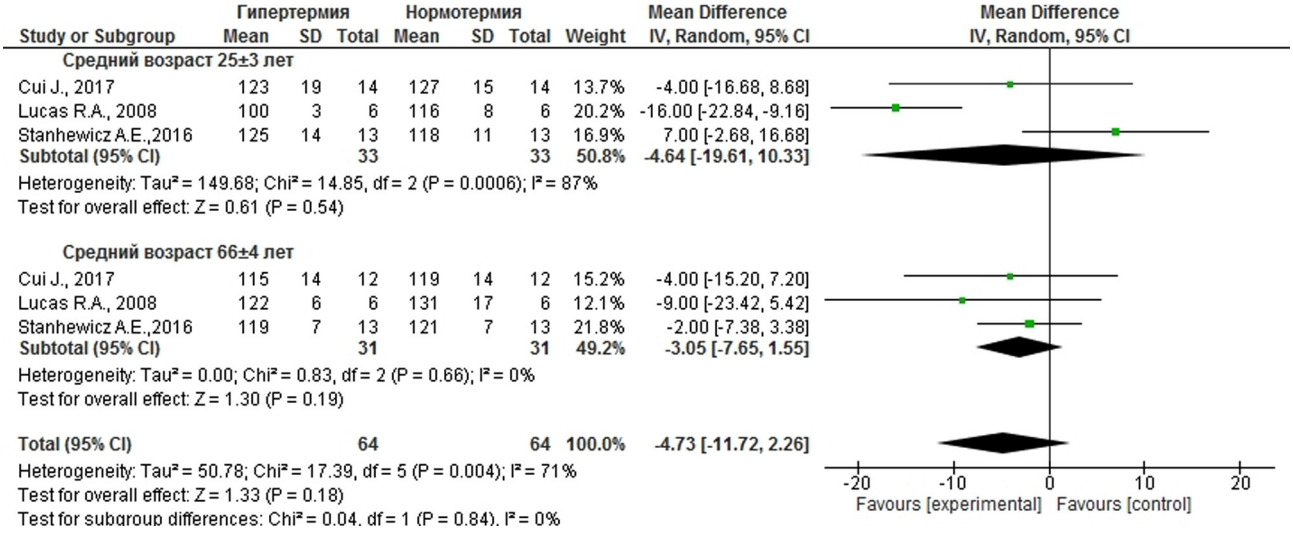


Рис. 5. Влияние гипертермии на САД, мм рт. ст.

экспериментов при исследовании изменения параметров гемодинамики у молодых и пожилых добровольцев в условиях нахождения в холодном помещении [10, 35, 72].

При других способах моделирования холодного стресса характер реакции параметров гемодинамики изменялся. Кратковременное нахождение в криосауне не оказывало существенного влияния на АД и ЧСС [15]. Локальное воздействие на лицо струей холодного воздуха вызывало прессорную реакцию АД и брадикардию, которые были более выражены у молодых людей [11, 56]. Есть предположение, что подобная реакция ЧСС на струю холодного воздуха связана с ответом вегетативной нервной системы на охлаждение рецепторов слизистой оболочки воздухоносных путей [29]. Экстремальный холодный стресс (купание в проруби, $t_{воды}$=2 °С) вызывал снижение температуры ядра, минутного объема кровообращения и ударного объема, а также значительное повышение АД и тахикардию [3]. Аналогичную реакцию АД и ЧСС отмечали и на погружение руки или ноги в ледяную воду (1 °С), причем амплитуда изменений АД не зависела от возраста, а тахикардия

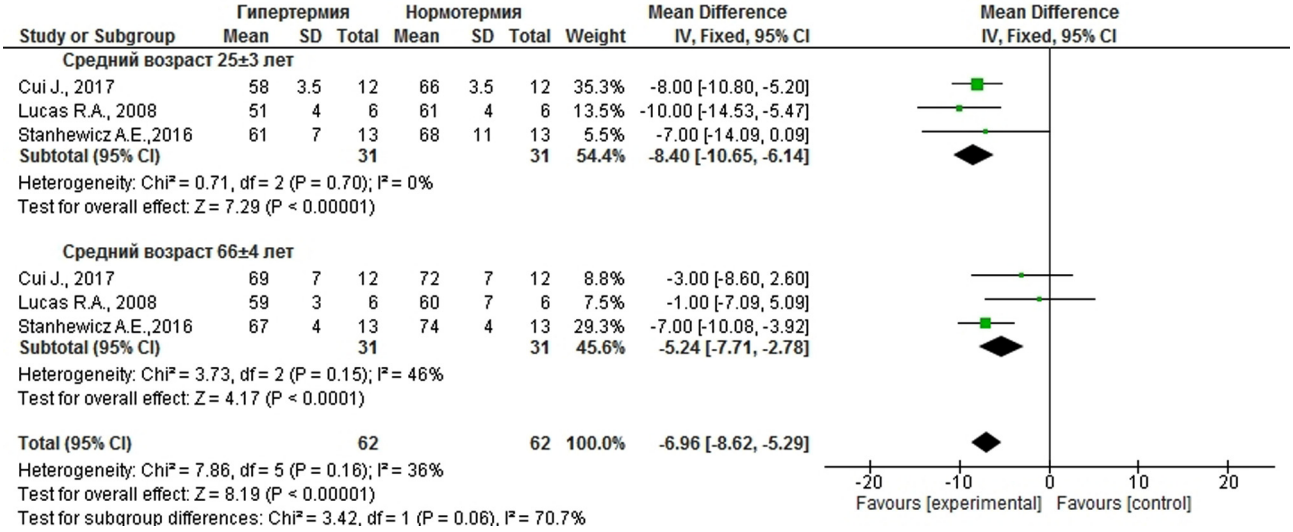


Рис. 6. Влияние гипертермии на ДАД, мм рт. ст.

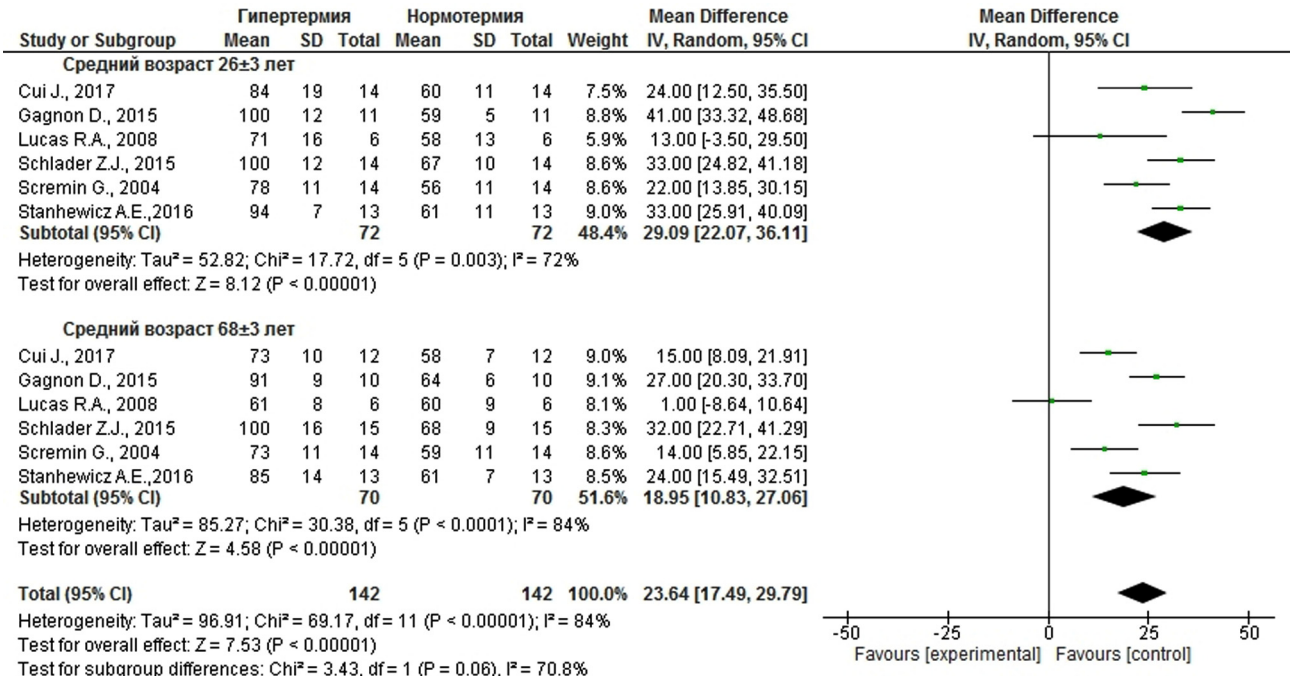


Рис. 7. Влияние гипертермии на ЧСС, уд/мин

была больше выражена у молодых добровольцев [19, 52]. Нормализация параметров гемодинамики после кратковременного холодного стресса, скорее всего, происходит достаточно быстро. Так, уже через 15 мин после окончания 15-минутной экспозиции в аэротрубе при температуре –10 °С АД практически возвращалось к исходному уровню [31].

Установлено, что у людей любого возраста как гипер-, так и гипотермия сопровождаются повышением активности симпатической нервной системы и подъемом уровня норадреналина в крови [14, 17, 20, 22, 25, 57, 64, 69]. Известно, что симпатическая нервная система способна вызывать неоднородные изменения в активности периферических симпатических нервов, чтобы избирательно контролировать регионарное кровообращение [6]. Повышение активности симпатической нервной системы обеспечивает снижение кровотока во внутренних органах в условиях гипертермии и сужение сосудов кожи в условиях гипотермии [13]. У пожилых людей, по сравнению с молодыми, в условиях нормотермии базовая симпатическая активность в мышечных нервах, как и уровень норадреналина в крови, повышены [20, 25, 64],

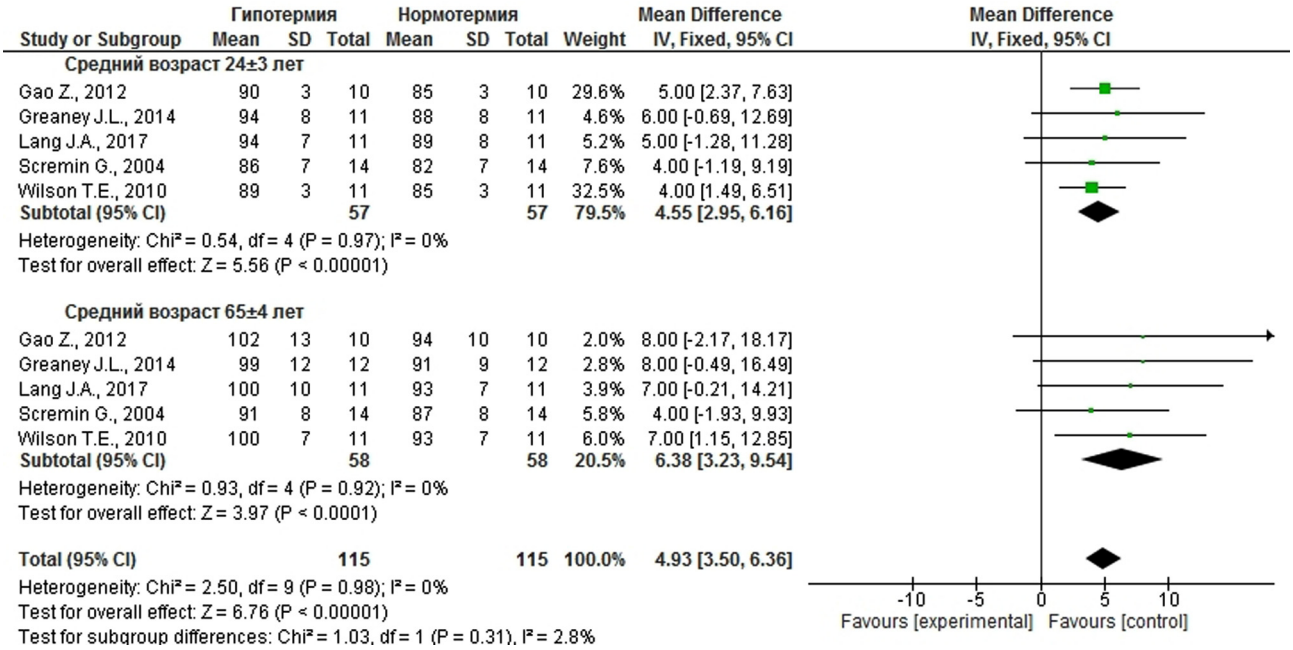


Рис. 8. Влияние гипотермии на среднее АД, мм рт. ст.

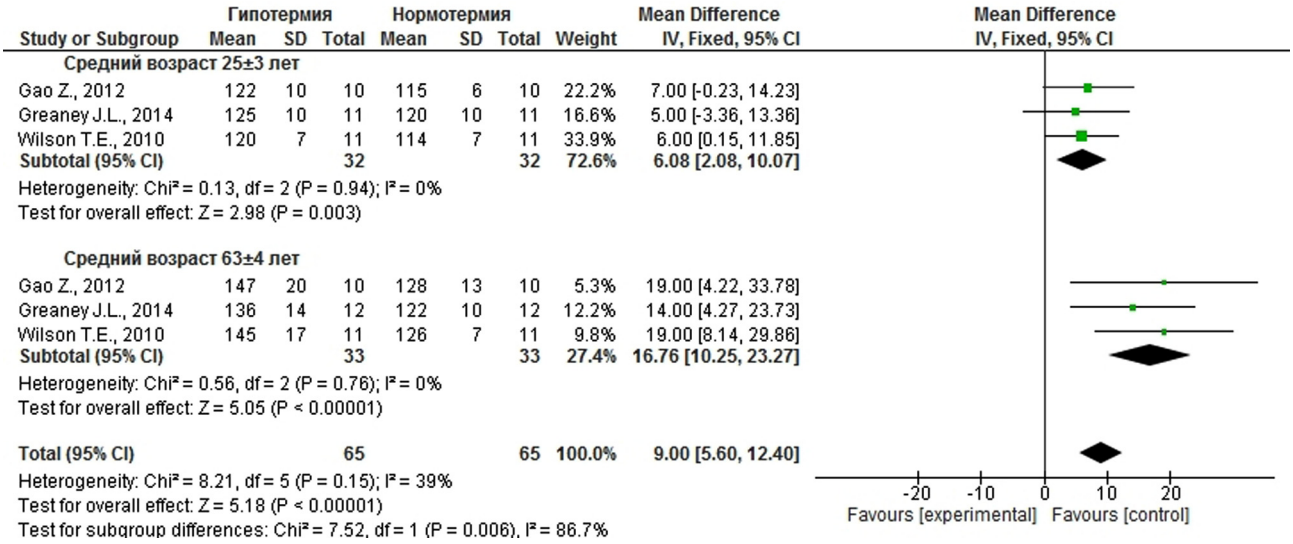


Рис. 9. Влияние гипотермии на САД, мм рт. ст.

в то же время базовая симпатическая кожная активность снижена [22] или такая же [65].

Было установлено, что ответ активности симпатических волокон малого берцового нерва, иннервирующих сосудистую сеть кожи, был снижен у пожилых добровольцев как на нагревание, так и на охлаждение всего тела [22, 65], а рефлекторная вазодилатация и вазоконстрикция сосудов кожи в ответ на колебания амбиентной температуры ослаблены у людей этой возрастной группы [24, 44, 62, 64, 65]. Также при старении снижается висцеральная вазоконстрикция при нагревании всего тела [25] и висцеральная вазодилатация (в частности, коронарных сосудов) при охлаждении [21]. Кроме того, у пожилых людей отмечается уменьшение вазоконстрикторной реакции сосудов кожи на норадреналин [71, 74].

Регистрация активности симпатических волокон малого берцового нерва, иннервирующих мышцы, показала, что ответ их активности на гипертермию с возрастом не изменяется [14], а на гипотермию — усиливается [23]. Это предположительно может быть компенсаторной реакцией в результате возрастного снижения чувстви-

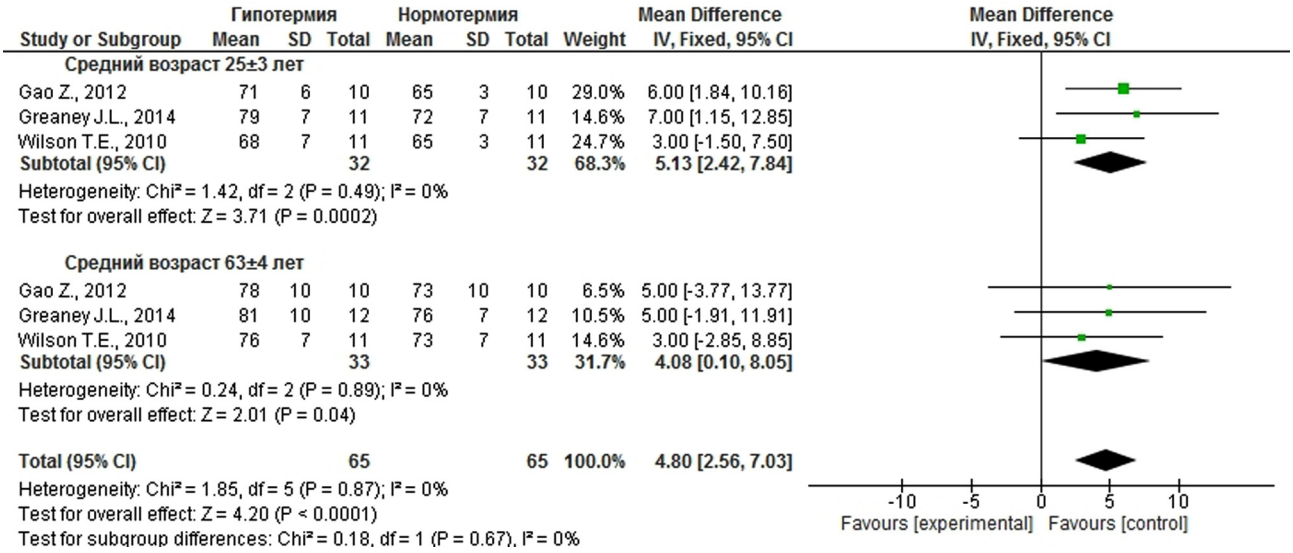


Рис. 10. Влияние гипотермии на ДАД, мм рт. ст.

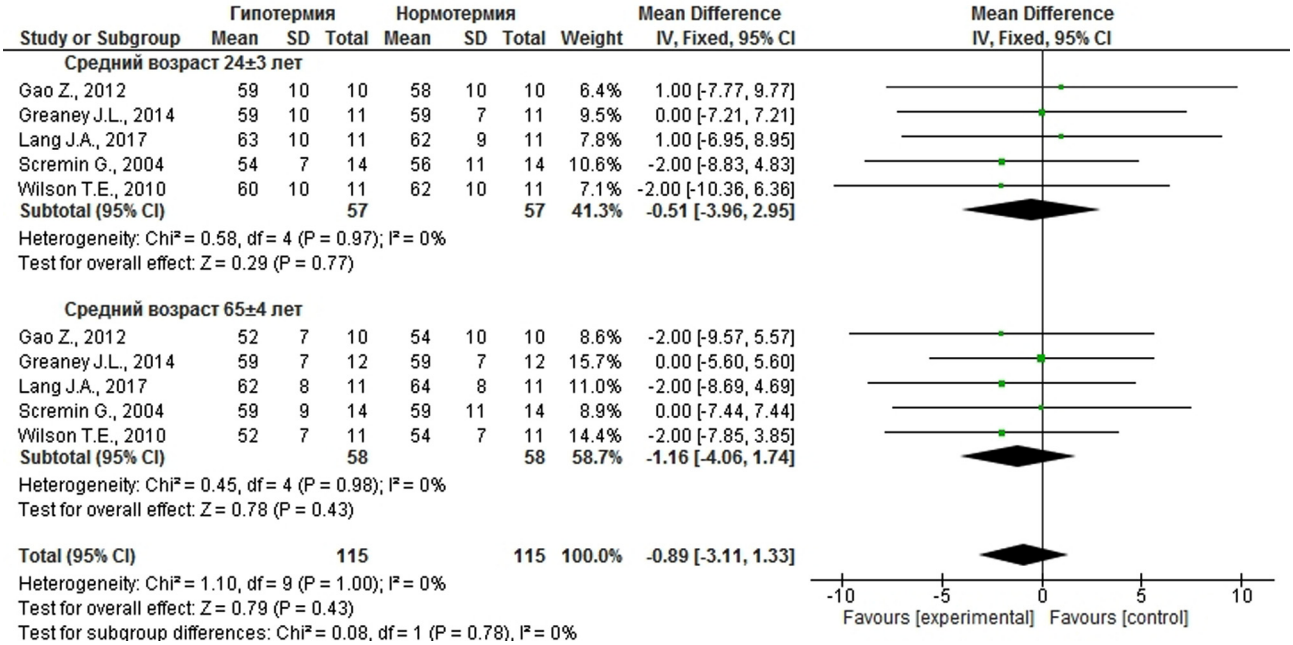


Рис. 11. Влияние гипотермии на ЧСС, уд/мин

тельности α-адренергических рецепторов [23], а также происходить из-за возрастного угнетения барорецепторного рефлекса [51]. Следует отметить, что при охлаждении поверхности тела при помощи перфузируемого костюма усиление мышечной симпатической нервной активности наблюдали у пожилых добровольцев, но не у молодых [23]. Вероятно, следствием этого и является схожая реакция параметров гемодинамики у молодых и старых добровольцев на нагревание всего тела и больший по амплитуде подъем САД у пожилых добровольцев по сравнению с молодыми при охлаждении всего тела.

Кроме норадреналина, ответ сердечно-сосудистой системы на холодный стресс поддерживается увеличением концентрации ангиотензина II и эндотелина-1 [67]. При старении наблюдают повышение концентрации эндотелина-1 и локального уровня ангиотензина II, что также может усиливать индуцированную холодом гипертензивную реакцию [16, 44]. Причина, лежащая в основе большей систолической, но не диастолической реакции АД на холодный стресс у пожилых людей, может заключаться в увеличении с возрастом артериальной жесткости [30].

Наличие сердечно-сосудистой патологии изменяет реакцию организма на температурный стресс. J. Cui и соавт. [14] отмечали, что у лиц с сердечной недостаточностью (средний возраст 61 год) при гипертермии наблюдается угнетение ответа симпатической нервной системы без существенного изменения реакции параметров гемодинамики и потоотделения. У пациентов 45–58 лет с ИБС при гипертермии изменения ЧСС были меньше по амплитуде, чем у здоровых субъектов [5]. У больных сахарным диабетом при тепловом стрессе наблюдали задержку порога активной вазодилатации кожи [73], а также было нарушено потоотделение [18]. Реакция параметров гемодинамики на пассивное нагревание всего тела не была изменена у пациентов с артериальной гипертензией [38].

В то же время, J. L. Greaney и соавт. [26] показали, что при снижении температуры кожи до 30,5 °С амплитуда подъема САД и вазоконстрикторная реакция кожи были выше у гипертензивных пациентов (средний возраст 56–58 лет), чем у нормотензивных лиц аналогичного возраста. Однако нормализация АД после окончания 15-минутного воздействия холода у гипертензивных пациентов происходила также быстро (в течение 15 мин), как и у нормотензивных добровольцев [31]. У пациентов с ИБС при воздействии холода возможны нарушения в кровоснабжении миокарда из-за снижения вазодилатации коронарных сосудов [21, 34]. По статистике, число обострений сердечно-сосудистых заболеваний существенно возрастет как в жару [41, 46], так и в холодную погоду [46, 48, 49, 66].

Известно, что уровень АД подвержен сезонным колебаниям с максимумом зимой и минимумом летом. Многочисленные исследования подтверждают большую амплитуду сезонных изменений АД в группе пожилых и гипертензивных пациентов [2]. Однако следует учитывать, что, помимо температуры воздуха [60], на циркаддиальные изменения в функционировании сердечно-сосудистой системы оказывает влияние сезонная динамика и других метеорологических факторов (атмосферного давления, парциальной плотности кислорода в воздухе, геомагнитной активности) [2]. Данные факторы могут как усиливать, так и ослаблять влияние температуры воздуха. Так, например, с одной стороны, парциальная плотность кислорода в воздухе имеет обратную взаимосвязь с амбиентной температурой [2]; с другой стороны, установлено, что амбиентная температура оказывает влияние на частоту дыхания, насыщенность крови кислородом, а также на доставку и потребление кислорода в тканях органов [47, 55]. Кроме того, сезонная динамика уровня мелатонина и тиреотропного гормона гипофиза могут вызвать циркаддиальные изменения в активности гормонов щитовидной железы и в общем метаболизме, что также может изменить параметры гемодинамики.

Заключение

У здоровых людей любого возраста повышение температуры кожи на 4 °С вызывает подъем температуры ядра в среднем на 0,8 °С, а понижение температуры кожи на 4 °С существенно не изменяет внутреннюю температуру. Нагревание всего тела сопровождается снижением уровня АД и увеличением ЧСС. Реакция параметров гемодинамики на гипертермию существенно не изменяется при старении. Охлаждение всего тела сопровождается увеличением уровня АД. При гипотермии амплитуда подъема САД больше у людей пожилого возраста.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Гайтон А.К., Холл Д.Э.* Медицинская физиология. М.: Логосфера, 2008.
2. *Кузьменко Н.В., Плисс М.Г., Цырлин В.А.* Зависимость циркаддиальной динамики артериального давления от сезонных колебаний метеорологических и гелиофизических факторов. Метаанализ // Рос. кардиол. журн. 2019. Т. 24. № 1. С. 80–93.
3. *Солонин Ю.Г., Кацюба Е.А.* Терморегуляция и кровообращение у лиц зрелого возраста при кратковременных экстремальных температурных воздействиях // Физиология человека. 2003. Т. 29. № 2. С. 67–74.
4. *Ambrose C.T.* The Role of Capillaries in the Lesser Ailments of Old Age and in Alzheimer's Disease and Vascular Dementia: The Potential of Pro-Therapeutic Angiogenesis // J. Alzheimers. Dis. 2016. Vol. 54. № 1. P. 31–43.
5. *Andersen I., Jensen P.L., Junker P. et al.* The effects of moderate heat stress on patients with ischemic heart disease // Scand. J. Work Environm. Hlth. 1976. Vol. 2. № 4. P. 256–268.
6. *Barman S.M., Gebber G.L., Calaresu F.R.* Differential control of sympathetic nerve discharge by the brain stem // Amer. J. Physiol. 1984. Vol. 247. № 3. Pt. 2. P. R513–R519.
7. *Bennett L.A., Johnson J.M., Stephens D.P. et al.* Evidence for a role for vasoactive intestinal peptide in active vasodilatation in the cutaneous vasculature of humans // J. Physiol. 2003. Vol. 552. Pt. 1. P. 223–232.
8. *Bernjak A., Cui J., Iwase S. et al.* Human sympathetic outflows to skin and muscle target organs fluctuate concordantly over a wide range of time-varying frequencies // J. Physiol. 2012. Vol. 590. № 2. P. 363–375.
9. *Breithaupt-Grögler K., Belz G.G.* Epidemiology of the arterial stiffness // Pathol. Biol. (Paris). 1999. Vol. 47. № 6. P. 604–613.
10. *Collins K.J., Easton J.C., Belfield-Smith H. et al.* Effects of age on body temperature and blood pressure in cold environments // Clin. Sci. (London). 1985. Vol. 69. № 4. P. 465–470.

11. Collins K.J., Abdel-Rahman T.A., Easton J.C. et al. Effects of facial cooling on elderly and young subjects: interactions with breath-holding and lower body negative pressure // Clin. Sci. (London). 1996. Vol. 90. № 6. P. 485–492.

12. Crandall C.G., Levine B.D., Etzel R.A. Effect of increasing central venous pressure during passive heating on skin blood flow // J. Appl. Physiol. (1985). 1999. Vol. 86. № 2. P. 605–610.

13. Crandall C.G., Wilson T.E. Human cardiovascular responses to passive heat stress // Compr. Physiol. 2015. Vol. 5. № 1. P. 17–43.

14. Cui J., Boehmer J., Blaha C., Sinoway L.I. Muscle sympathetic nerve activity response to heat stress is attenuated in chronic heart failure patients // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2017. Vol. 312. № 6. P. R873–R882.

15. Cuttell S., Hammond L., Langdon D., Costello J. Individualising the exposure of -110°C whole body cryotherapy: The effects of sex and body composition // J. Therm. Biol. 2017. Vol. 65. P. 41–47.

16. Donato A.J., Gano L.B., Eskurza I. et al. Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase // Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2009. Vol. 297. № 1. P. H425–H432.

17. Fagius J., Kay R. Low ambient temperature increases baroreflex-governed sympathetic outflow to muscle vessels in humans // Acta Physiol. Scandinavica. 1991. Vol. 142. № 2. P. 201–209.

18. Fealey R.D., Low P.A., Thomas J.E. Thermoregulatory sweating abnormalities in diabetes mellitus // Mayo clin. Proc. 1989. Vol. 64. № 6. P. 617–628.

19. Flück D., Ainslie P.N., Bain A.R. et al. Extra- and intracranial blood flow regulation during the cold pressor test: influence of age // J. Appl. Physiol. (1985). 2017. Vol. 123. № 5. P. 1071–1080.

20. Gagnon D., Schlader Z.J., Crandall C.G. Sympathetic activity during passive heat stress in healthy aged humans // J. Physiol. 2015. Vol. 593. № 9. P. 2225–2235.

21. Gao Z., Wilson T.E., Drew R.C. et al. Altered coronary vascular control during cold stress in healthy older adults // Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2012. Vol. 302. № 1. P. H312–H318.

22. Grassi G., Seravalle G., Turri C. et al. Impairment of thermoregulatory control of skin sympathetic nerve traffic in the elderly // Circulation. 2003. Vol. 108. № 6. P. 729–735.

23. Greaney J.L., Stanhewicz A.E., Kenney W.L., Alexander L.M. Muscle sympathetic nerve activity during cold stress and isometric exercise in healthy older adults // J. Appl. Physiol. (1985). 2014. Vol. 117. № 6. P. 648–657.

24. Greaney J.L., Stanhewicz A.E., Proctor D.N. et al. Impairments in central cardiovascular function contribute to attenuated reflex vasodilation in aged skin // J. Appl. Physiol. (1985). 2015. Vol. 119. № 12. P. 1411–1420.

25. Greaney J.L., Kenney W.L., Alexander L.M. Sympathetic regulation during thermal stress in human aging and disease // Auton. Neurosci. 2016. Vol. 196. P. 81–90.

26. Greaney J.L., Kenney W.L., Alexander L.M. Neurovascular mechanisms underlying augmented cold-induced reflex cutaneous vasoconstriction in human hypertension // J. Physiol. 2017. Vol. 595. № 5. P. 1687–1698.

27. Guraya S.Y. The usage of social networking sites by medical students for educational purposes: a meta-analysis and systematic review // New Amer. J. Med. Sci. 2016. Vol. 8. № 7. 268–278.

28. Harris M.B., Blackstone M.A., Ju H. et al. Heat-induced increases in endothelial NO synthase expression and activity and endothelial NO release // Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2003. Vol. 285. № 1. P. H333–H340.

29. Heindl S., Struck J., Wellhöner P. et al. Effect of facial cooling and cold air inhalation on sympathetic nerve activity in men // Respir. Physiol. Neurobiol. 2004. Vol. 142. № 1. P. 69–80.

30. Hess K.L., Wilson T.E., Sauder C.L. et al. Aging affects the cardiovascular responses to cold stress in humans // J. Appl. Physiol. (1985). 2009. Vol. 107. № 4. P. 1076–1082.

31. Hintsala H., Kenttä T.V., Tulppo M. et al. Cardiac repolarization and autonomic regulation during short-term cold exposure in hypertensive men: an experimental study // PLoS One. 2014. Vol. 9. № 7. P. e99973.

32. Holowatz L.A., Kenney W.L. Peripheral mechanisms of thermoregulatory control of skin blood flow in aged humans // J. Appl. Physiol. (1985). 2010. Vol. 109. № 5. P. 1538–1544.

33. Horn M.A., Trafford A.W. Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodeling // J. molec. Cell Cardiol. 2016. Vol. 93. P. 175–185.

34. Houdas Y., Deklunder G., Lecroart J.L. Cold exposure and ischemic heart disease // Int. J. Sports Med. 1992. Vol. 13 Suppl. 1. P. S179–S181.

35. Inoue Y., Nakao M., Araki T., Ueda H. Thermoregulatory responses of young and older men to cold exposure // Europ. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol. 1992. Vol. 65. № 6. P. 492–498.

36. Kamiya A., Michikami D., Hayano J., Sunagawa K. Heat stress modifies human baroreflex function independently of heat-induced hypovolemia // Jpn. J. Physiol. 2003. Vol. 53. № 3. P. 215–222.

37. Kataoka Y., Yoshida F. The change of hemodynamics and heart rate variability on bathing by the gap of water temperature // Biomed. Pharmacother. 2005. Vol. 59. Suppl. 1. P. S92–S99.

38. Kellogg D.L., Morris S.R., Rodriguez S.B. et al. Thermoregulatory reflexes and cutaneous active vasodilation during heat stress in hypertensive humans // J. Appl. Physiol. 1998. Vol. 85. № 1. P. 175–180.

39. Kellogg D.L., Crandall C.G., Liu Y. et al. Nitric oxide and cutaneous active vasodilation during heat stress in humans // J. Appl. Physiol. (1985). 1998. Vol. 85. № 3. P. 824–829.

40. Kellogg D.L., Zhao J.L., Wu Y., Johnson J.M. VIP/PACAP receptor mediation of cutaneous active vasodilation during heat stress in humans // J. Appl. Physiol. (1985). 2010. Vol. 109. № 1. P. 95–100.

41. Kenny G.P., Yardley J., Brown C. et al. Heat stress in older individuals and patients with common chronic diseases // CMAJ. 2010. Vol. 182. № 10. P. 1053–1060.

42. Kenny G.P., Poirier M.P., Metsios G.S. et al. Hyperthermia and cardiovascular strain during an extreme heat exposure in young versus older adults // Temperature (Austin). 2016. Vol. 4. № 1. P. 79–88.

43. Kinugasa H., Hirayanagi K. Effects of skin surface cooling and heating on autonomic nervous activity and baroreflex sensitivity in humans // Exp. Physiol. 1999. Vol. 84. № 2. P. 369–377.

44. Lakatta EG. So! What's aging? Is cardiovascular aging a disease? // J. molec. Cell Cardiol. 2015. Vol. 83. P. 1–13.

45. Lang J.A., Smaller K.A. Oral l-tyrosine supplementation augments the vasoconstriction response to whole-body cooling in older adults // Exp. Physiol. 2017. Vol. 102. № 7. P. 835–844.

46. Liu C, Yavar Z, Sun Q. Cardiovascular response to thermoregulatory challenges // Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2015. Vol. 309. № 11. P. H1793–H1812.

47. Lucas R.A., Cotter J.D., Morrison S., Ainslie P.N. The effects of ageing and passive heating on cardiorespiratory and cerebrovascular responses to orthostatic stress in humans // Exp. Physiol. 2008. Vol. 93. № 10. P. 1104–1117.

48. Marti-Soler H., Gubelmann C., Aeschbacher S. et al. Seasonality of cardiovascular risk factors: an analysis including over 230 000 participants in 15 countries // Heart. 2014. Vol. 100. № 19. P. 1517–1523.

49. Marti-Soler H., Gonseth S., Gubelmann C. et al. Seasonal variation of overall and cardiovascular mortality: a study in 19 countries from different geographic locations // PLoS One. 2014. Vol. 9. № 11. P. e113500.

50. Minson C.T., Wladkowski S.L., Cardell A.F. et al. Age alters the cardiovascular response to direct passive heating // J. Appl. Physiol. (1985) 1998. Vol. 84. № 4. P. 1323–1332.

51. Monahan K.D. Effect of aging on baroreflex function in humans // Amer. J. Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol. 2007. Vol. 293. №1. P. R3–R12.

52. Muller M.D., Mast J.L., Patel H., Sinoway L.I. Cardiac mechanics are impaired during fatiguing exercise and cold pressor test in healthy older adults // J. Appl. Physiol. (1985). 2013. Vol. 114. № 2. P. 186–194.

53. Nagasawa Y., Komori S., Sato M. et al. Effects of hot bath immersion on autonomic activity and hemodynamics: comparison of the elderly patient and the healthy young // Jpn. Circ. J. 2001. Vol. 65. № 7. P. 587–592.

54. Ono J., Hashiguchi N., Sawatari H. et al. Effect of water bath temperature on physiological parameters and subjective sensation in older people // Geriat. Geront. Int. 2017. Vol. 17. № 11. P. 2164–2170.

55. Parolari A., Alamanni F., Gherli T. et al. Cardiopulmonary bypass and oxygen consumption: oxygen delivery and hemodynamics // Ann. Thorac. Surg. 1999. Vol. 67. P. 1320–1327.

56. Petrella R.J., Cunningham D.A., Nichol P.M., Thayer R. Cardiovascular responses to facial cooling are age and fitness dependent // Med. Sci. Sports Exerc. 1999. Vol. 31. № 8. P. 1163–1168.

57. Pranskunas A., Pranskuniene Z., Milieskaite E. et al. Effects of whole body heat stress on sublingual microcirculation in healthy humans // Europ. J. Appl. Physiol. 2015. Vol. 115. № 1. P. 157–165.

58. Ried K. Interpreting and understanding meta-analysis graphs // Australian Family Physician. 2006. Vol. 35. № 8. P. 635–638.

59. Rogers G., Oosthuyse T. A comparison of the indirect estimate of mean arterial pressure calculated by the conventionale-quation and calculated to compensate for a change in heart rate // Int. J. Sports Med. 2000. Vol. 21. № 2. P. 90–95.

60. Rosenthal T. Seasonal variations in blood pressure // Amer. J. Geriat. Cardiol. 2004. Vol. 13. № 5. P. 267–272.

61. Schliebs R., Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration // Behav. Brain Res. 2011. Vol. 221. № 2. P. 555–563.

62. Schlader Z.J., Gagnon D., Adams A. et al. Cognitive and perceptual responses during passive heat stress in younger and older adults // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2015. Vol. 308. № 10. P. R847–R854.

63. Scremin G., Kenney W.L. Aging and the skin blood flow response to the unloading of baroreceptors during heat and cold stress // J. Appl. Physiol. (1985). 2004. Vol. 96. № 3. P. 1019–1025.

64. Seals D.R., Esler M.D. Human ageing and the sympathoadrenal system // J. Physiol. 2000. Vol. 528. Pt. 3. P. 407–417.

65. Stanhewicz A.E., Greaney J.L., Alexander L.M., Kenney W.L. Blunted increases in skin sympathetic nerve activity are related to attenuated reflex vasodilation in aged human skin // J. Appl. Physiol. (1985). 2016. Vol. 121. № 6. P. 1354–1362.

66. Stewart S., Keates A.K., Redfern A., McMurray J.V. Seasonal variations in cardiovascular disease // Nat. Rev. Cardiol. 2017. Vol. 14. № 11. P. 654–664.

67. Sun Z. Cardiovascular responses to cold exposure // Front. Biosci. (Elite Ed.). 2010. Vol. 2. P. 495–503.

68. Sun Z. Aging, arterial stiffness, and hypertension // Hypertension. 2015. Vol. 65. № 2. P. 252–256.

69. Terkelsen A.J., Gierthmühlen J., Petersen L.J. et al. Cutaneous noradrenaline measured by microdialysis in complex regional pain syndrome during whole-body cooling and heating // Exp. Neurol. 2013. Vol. 247. P. 456–465.

70. Thompson C.S., Kenney W.L. Altered neurotransmitter control of reflex vasoconstriction in aged human skin // J. Physiol. 2004. Vol. 558. Pt. 2. P. 697–704.

71. Thompson C.S., Holowatz L.A., Kenney W.L. Cutaneous vasoconstrictor responses to norepinephrine are attenuated in older humans // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2005. Vol. 288. № 5. P. R1108–R1113.

72. Wagner J.A., Horvath S.M. Cardiovascular reactions to cold exposures differ with age and gender // J. Appl. Physiol. (1985). 1985. Vol. 58. № 1. P. 187–192.

73. Wick D.E., Roberts S.K., Basu A. et al. Delayed threshold for active cutaneous vasodilation in patients with type 2 diabetes mellitus // J. Appl. Physiol. 2006. Vol. 100. № 2. P. 637–641.

74. Wilson T.E., Monahan K.D., Short D.S., Ray C.A. Effect of age on cutaneous vasoconstrictor responses to norepinephrine in humans // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2004. Vol. 287. № 5. P. R1230–R1234.

75. Wilson T.E., Brothers R.M., Tollund C. et al. Effect of thermal stress on Frank-Starling relations in humans // J. Physiol. 2009. Vol. 587. Pt. 13. P. 3383–3392.

76. Wilson T.E., Gao Z., Hess K.L., Monahan K.D. Effect of aging on cardiac function during cold stress in humans // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2010. Vol. 298. № 6. P. R1627–R1633.

77. Virdis A., Ghiadoni L., Giannarelli C., Taddei S. Endothelial dysfunction and vascular disease in later life // Maturitas. 2010. Vol. 67. № 1. P. 20–24.

Поступила в редакцию 15.04.2019
После доработки 15.04.2019
Принята к публикации 07.05.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 964–975

N. V. Kuzmenko[1, 2], M. G. Pliss[1, 2], M. M. Galagudza[1, 2], V. A. Tsyrlin[1]

EFFECTS OF HYPER- AND HYPOTHERMIA ON HEMODYNAMIC PARAMETERS IN PEOPLE OF DIFFERENT AGE GROUPS: META-ANALYSIS

[1] V. A. Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova str., St. Petersburg 197341,
e-mail: nat.kuzmencko2011@yandex.ru; [2] I. P. Pavlov Saint Petersburg First State Medical University,
6–8 L'va Tolstogo str., St. Petersburg 197022

Age-related changes in thermoregulation occur due to the deterioration of the adaptive capacity of the cardiovascular system caused by remodeling of the vascular wall and myocardium, capillary density reduction, changes in the synthesis and clearance of neurotransmitters and vasoactive substances, as well as the inhibition of the vegetative mechanisms of hemodynamic parameters regulation. A common way to simulate hyper- and hypothermal conditions is to use a suit with tubes to fill with water at different temperatures. The purpose of this work is to conduct a meta-analysis of the hemodynamic parameters shifts when modeling hyper- and hypothermia using such a suit in people of different age groups. As a result of the meta-analysis, it was found that heating the whole body is accompanied by a decrease in blood pressure (BP) and an increase in heart rate (HR). The reaction of hemodynamic parameters to hyperthermia does not significantly change with aging. Cooling of the whole body is accompanied by an increase in BP without changing the HR. In hypothermia, the amplitude of the elevation of the systolic BP is greater in older people.

Key words: *hyperthermia, hypothermia, blood pressure, heart rate, age-related changes*

© А. С. Пушкин, 2019
УДК 616.132-07-053.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 976–984

А. С. Пушкин [1, 2, 3]

ПЕРСОНИФИКАЦИЯ МОНИТОРИНГА ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА И ЕГО ИСХОДОВ У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА. СООБЩЕНИЕ 2. ИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ (ОБЗОР)

[1] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, e-mail: pushkindoc@mail.ru; [2] Городская многопрофильная больница № 2, 194354, Санкт-Петербург, Учебный пер., 5; [3] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

В представленном обзоре описаны особенности диагностики и мониторинга пациентов пожилого и старческого возраста с ИБС, что требует проведения коронароангиографии, чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) или аортокоронарного шунтирования. В обзоре отмечено преимущество рутинной инвазивной тактики ведения пожилых пациентов с высоким риском развития острого коронарного синдрома без подъёма сегмента *ST*. Авторы признают необходимость предварительной оценки хрупкости до проведения коронарной ангиографии. Радиальный доступ для коронарной ангиографии или ЧКВ считается более предпочтительным ввиду более низкой частоты осложнений доступа и кровотечений. Повседневная деятельность пациентов пожилого возраста после ЧКВ может быть использована для прогнозирования смертности. Помимо этого, рекомендуется применение шкалы риска ишемического инсульта и системного тромбоэмболизма при фибрилляции предсердий в качестве предиктора риска развития неблагоприятных цереброваскулярных эпизодов. Рекомендовано принятие во внимание фактов кальцификации аорты и диффузных атеросклеротических изменений стенок коронарных артерий для применения шкал верификации риска EuroSCORE и EuroSCORE II у пациентов 70 лет и старше, перенесших аортокоронарное шунтирование.

Ключевые слова: коронароангиография, пожилой и старческий возраст, персонификация, стентирование, аортокоронарное шунтирование

Заболеваемость в РФ имеет постоянную тенденцию к развитию, что, безусловно, коррелирует с увеличением доли пожилого населения [4], а также с технологическим прогрессом, позволяющим эффективнее выявлять патологию с помощью новых методов диагностики [1].

Сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему остаются главной причиной смертности населения во всём мире — в 2010 г. они составили 29,6 % от всех случаев смертности. По прогнозу ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания сохранят тенденцию к увеличению во всём мире. К 2020 г. общее число прогнозируемых смертей от различных форм этого класса заболеваний может иметь значительный прирост [2].

Следует отметить, что уровень общей заболеваемости значительно выше у лиц старшего трудоспособного возраста с сердечно-сосудистыми заболеваниями — 61 646,2 в расчете на 100 тыс. населения, у лиц с ИБС — 14 961,3 [2]. Анализ динамики демографических показателей РФ позволяет сделать вывод о том, что значительный вклад в общую смертность приходится на лиц пожилого возраста: в 2006 г. он составил 67,3 %, в 2011 г. — 71,4 %, а в 2016 г. — уже 75,7 % [5].

Коронароангиография

Коронароангиография является процедурой интервенционной кардиологии, относящейся к рентгеноконтрастным методам. В настоящее время исследование считается «золотым стандартом» в диагностике ИБС, позволяя с высокой степенью точности определять характер, место и степень сужения коронарных артерий.

По сравнению с более молодыми пациентами с острым коронарным синдромом (ОКС), у пожилых с меньшей вероятностью проводят коронарную ангиографию и последующую реваскуляризацию [20, 28]. Однако реальные данные из реестров показали достоверную пользу от инвазивной стратегии, особенно у пожилых людей.

Существуют предположения об увеличении этого эффекта с возрастом [49]. Метаанализ, сравнивающий рутинную инвазивную стратегию с селективной инвазивной стратегией у пациентов с ОКС без подъёма сегмента *ST* (ОКСбп*ST*), показал более низкую опасность смерти от сердечно-сосудистых заболеваний или инфаркта миокарда (ИМ) у пациентов ⩾65 лет, подвергнутых инвазивному лечению (26,1 %), чем у пациентов той же группы, не подвергшихся оперативному лечению (34,9 %), при p=0,007 [24]. Кроме того, в исследовании TACTICS-TIMI 18 было выявлено значительное снижение смертности или ИМ в течение 6 мес после ОКС у пожилых пациентов (⩾75 лет), подвергавшихся инвазивной тактике (10,8 %), по сравнению с пациентами с консервативной стратегией лечения, главным образом обусловленной сокращением нефатального ИМ (21,6 %). Однако инвазивная стратегия привела к значительно более высокой частоте кровотечений у пожилых пациентов (16,6 %) по сравнению с консервативной стратегией (6,5 %) [11]. Указанные утверждения согласуются с данными реестра GRACE, где показатели кровотечений по возрасту составляют для пациентов моложе 70 лет — 2,2 %; 70–80 лет — 3,3 %; старше 80 лет — 7 % [27].

В исследовании Elderly ACS в Италии не было обнаружено существенных различий в смертности, частоте ИМ или кровотечений между инвазивным и первоначально консервативным лечением у 313 пожилых пациентов (⩾75 лет) с ОКСбп*ST*. Однако анализ когорты показал значительную пользу от инвазивного подхода у пациентов с повышенным уровнем тропонина [68]. Кроме того, исследование MOSCA не выявило существенных различий между инвазивным и консервативным лечением у пациентов старческого возраста (⩾70 лет) с ОКСбп*ST* [67]. Исследование After Eighty приводит доказательства в пользу стандартной инвазивной стратегии у 457 пациентов ⩾ 80 лет с ОКСбп*ST* и низкой частотой кровотечений (1,7 % против 1,8 %) [74]. Однако низкие показатели кровотечений также могут быть связаны с техникой выполнения инвазивного лечения и/или выбором клинически более стабильных пациентов. С возрастом наблюдали снижение эффективности инвазивной стратегии. Кроме того, критерий формирования выборки пациентов в данном исследовании можно считать дискутабельным, так как были включены только 457 из 4 187 восьмидесятилетних пациентов с ОКСбп*ST*.

В директиве Европейского общества кардиологов (ЕОК) содержится рекомендация о сокращении сроков инвазивной стратегии, основанной на критериях риска ишемических осложнений. Пациенты со значительным повышением или снижением сердечного тропонина, имеющие динамические изменения на ЭКГ или оценку по шкале GRACE >140, должны проходить ангиографию в течение первых 24 ч. Пациенты с сахарным диабетом, почечной недостаточностью, сниженной ФВ ЛЖ или застойной сердечной недостаточностью, ранней постинфарктной стенокардией, пациенты, имеющие в анамнезе чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) или аортокоронарное шунтирование (АКШ) и GRACE от 109 до 140, должны подвергаться ангиографии в течение 72 ч. Преимущество ранней и отсроченной инвазивной стратегии было обусловлено сокращением эпизодов рефрактерной ишемии и более коротким пребыванием в стационаре. Эти результаты согласуются с исследованиями, в которые входили пожилые люди [50, 54, 75].

Таким образом, большинство источников рекомендует подвергать пожилых пациентов с высоким риском ОКСбп*ST* рутинной инвазивной тактике ведения. Однако, поскольку хрупкость связана с более высокими показателями неблагоприятных долгосрочных результатов после ЧКВ [71], клиническая оценка хрупкости и ожидаемой пользы от процедуры всегда должна предшествовать решению о проведении коронарной ангиографии.

Применяемый в настоящее время радиальный доступ для коронарной ангиографии или ЧКВ связан с более низкой частотой осложнений и кровотечений [15]. Сохраняется неопределенность в отношении роли радиального доступа у пожилых пациентов, перенесших катетеризацию сердца. В ходе исследования RIVAL пациенты с ОКС проходили катетеризацию сердца из радиального и бедренного доступа. В этом анализе показатели осложнений в зависимости от варианта доступа к поражённому сосуду сравнивали по разным возрастным группам. Из 7 021 пациента 1 035 (15 %) были старше 75 лет. Во всех возрастных группах радиальный доступ ассоциировался с его более высокими показателями к поражённому сосуду и более низкими показателями осложнений места доступа без существенного взаимодействия возраста и поражённой артерии. Радиальный доступ был связан с более низкими показателями осложнений основного сосудистого доступа у пациентов ⩾75 лет (3,6 % против 6,6 %, p=0,03) и у па-

циентов <75 лет (1 % против 3,2 %, $p<0,001$). Не было существенных различий в первичных неблагоприятных исходах (смерть, ИМ, инсульт или кровотечение) или их отдельных компонентов в любой возрастной группе. У пациентов ⩾75 лет, перенесших первичное ЧКВ, не было существенной разницы во времени процедуры (120 мин против 115 мин, $p=0,3$) [21].

Чрескожные коронарные вмешательства

ЧКВ — лечебные вмешательства на коронарных артериях, осуществляемые с помощью вводимого чрескожно катетера [обычно выполняют транслюминальную баллонную ангиоплатику (ТЛБА), чаще с имплантацией стентов — стентирование], это синоним транслюминальной баллонной ангиопластики [3].

У пожилых людей значительно чаще, чем у молодых, возникают геморрагические или тромботические осложнения после ЧКВ. Возраст является независимым предиктором кровотечения у пациентов с ОКС после ЧКВ, и это связано с более высокими показателями внутрибольничной смертности [55]. Было выявлено, что смертность значительно выше у пациентов с кровотечением после ЧКВ (более 18 %), чем у пациентов без геморрагических осложнений (5 %) [55]. Тромботические осложнения, такие как тромбоз стента и рестеноз, чаще встречаются в старших возрастных группах. В исследовании J. De Gregorio и соавт. у 47 % пациентов 75 лет и старше после ЧКВ со стентированием рестеноз на участке стента или рядом с ним наблюдали в 50 % случаев или более по сравнению с 28 % случаев у более молодых пациентов. Кроме того, у пожилых пациентов наблюдали более диффузный рестеноз (длина 1 см или больше), чем у более молодых [26].

Повышенный риск кровотечения после ЧКВ у пожилых людей можно объяснить несколькими гематологическими изменениями, такими как более высокий уровень тканевого активатора плазминогена (*tPA*) [76], сниженная агрегация тромбоцитов [46], наличие более запущенных и осложненных сосудистых заболеваний с выраженными локальными изменениями, более высокой стадией атеросклероза и гипертензии [55]. В противоположность сказанному, пожилые люди имеют повышенную вязкость крови, более высокую активность нескольких факторов свертывания, более низкую фибринолитическую активность, поскольку было доказано, что уровень ингибитора активатора плазминогена (*PAI*-1) увеличивается с возрастом [16, 32]. Эти изменения вызывают протромботическое состояние у пожилых пациентов, что потенциально увеличивает риск осложнений после ЧКВ.

Кроме того, старение связано с нарушением сосудистой структуры и эндотелиальной функции, вызванной несколькими взаимодействующими гистологическими и молекулярными изменениями, такими как повышенное содержание коллагена, изменения структуры гладких мышц и измененный состав внеклеточного матрикса стенки артерии. Это может привести к постепенному уменьшению упругих волокон, жесткости артериальной стенки и повышенному риску атеросклероза и артериального тромбоза [32]. Многие связанные с ЧКВ сосудистые осложнения, такие как большие гематомы в бедренных областях, псевдоаневризма и артериовенозный свищ, также ассоциированы с возрастом [63]. Кроме того, постепенное нарушение функции эндотелиальных клеток, которое происходит при старении, приводит к снижению производства оксида азота и простациклина, которые играют важную роль в содействии вазодилатации, а также в предотвращении агрегации тромбоцитов [32, 73].

Пациенты старших возрастных групп, как правило, имеют более сложные и прогрессирующие поражения коронарных артерий, что усложняет проведение ЧКВ и повышает риск осложнений, снижая вероятность успеха процедуры [10]. W. B. Batchelor и соавт. [14] сравнивали ангиографические характеристики 7 472 пациентов старше 80 лет с пациентами моложе 80 лет, перенесших ЧКВ. У старшей возрастной когорты чаще поражалась левая основная коронарная артерия и проксимальный отдел передней нисходящей артерии, чем у пациентов младше 79 лет, — 7,3 % против 5,7 % ($p<0,01$) и 24 % против 20 % ($p<0,01$) соответственно. Более возрастные пациенты, как правило, имеют большее число пораженных сосудов. Так, в исследовании J. De Gregorio и соавт. у 55 % пациентов 75 лет и старше имелось три изменённых коронарных сосуда по сравнению с 24 % более молодых пациентов ($p=0,0001$). Кроме того, только у 22 % пожилых пациентов встречалось поражение только одной коронарной артерии, в более молодой группе сравнения таких пациентов было уже 38 % ($p=0,0001$) [26].

В исследовании SYNTAX [53, 61, 70] была произведена оценка прогнозирования клинических исходов у пациентов, перенесших ЧКВ, особенно с поражением левой основной коронарной

артерии и/или с многососудистым коронарным заболеванием, в зависимости от сложности их поражений [77]. Позднее эта система оценки была интегрирована с некоторыми независимыми клиническими параметрами, такими как возраст пациента, уровень креатинина сыворотки и ФВ ЛЖ, чтобы получить клиническую шкалу оценки CSS SYNTAX [35]. Было показано, что применение обеих систем обосновано при стратификации риска и раннем прогнозе смертности у пожилых пациентов с ОКС, проходящих ЧКВ. В то время как оценка SYNTAX не предсказывала долгосрочные клинические результаты, CSS была полезна для прогнозирования неблагоприятных сердечных и цереброваскулярных событий, отражающих потенциально значимое влияние клинических и демографических факторов пациента, например возраста [69].

Современные исследования также показали, что возраст влияет на развитие кальцификации коронарных артерий [56, 60]. Интенсивность кальцификации коронарной системы связана с развитием коронарной недостаточности, а содержание кальция в коронарной артерии прямо ассоциировано с увеличением неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [66].

В результате вышеупомянутых факторов ожидается, что результат ЧКВ у пожилых пациентов будет хуже, чем у популяции в целом. Хотя исследования демонстрируют приемлемые краткосрочные и долгосрочные результаты ЧКВ у пожилых людей в стационаре в первые 30 дней после операции и даже от 1 до 5 лет, показатели смертности от всех причин по-прежнему остаются выше среднепопуляционных [9, 17, 19]. Помимо смерти, существует более высокая вероятность развития множества осложнений вследствие процедуры ЧКВ, которые оказывают воздействие на общий клинический исход и качество жизни пациентов по сравнению с более молодыми пациентами [38]. Описано много сердечных осложнений, таких как кардиогенный шок, острый ИМ, острый разрыв межжелудочковой перегородки, ятрогенная коронарная диссекция, коронарная перфорация и тромбоз стента. Сообщалось также о других несердечных осложнениях, таких как острая почечная недостаточность, инсульт и осложнения в месте чрескожного доступа, такие как бедренная или лучевая диссекция и/или гематома [45, 72].

Одним из осложнений, возникших в результате неблагоприятного клинического исхода, считается кровотечение. Сообщалось, что различные виды кровотечения ассоциируются с ЧКВ, такие как кровотечение из места доступа, перикардиальное кровотечение, которое также может привести к тампонаде, забрюшинное кровотечение и желудочно-кишечное кровотечение [17, 19]. Помимо возраста пациента, многие другие переменные оказались независимыми предикторами неблагоприятного исхода у пожилых людей, перенесших ЧКВ. Сниженная сердечная функция с ФВЛЖ ниже 40 %, класс Killip 3 или хуже, кардиогенный шок и гипотензия с САД ниже 100 мм рт. ст. были идентифицированы как независимые предикторы повышенного риска однолетней смертности [22]. Кроме того, повседневная деятельность (activities of daily living — ADLs, ADL) пациентов пожилого возраста после ЧКВ может быть использована для прогнозирования смертности. Оценка ADL по индексу Бартхеля (BI) во время приема и выписки была исследована S. Higuchi и соавт. [40] для прогнозирования смертности в течение 1 года у пациентов старческого возраста, подвергшихся ЧКВ при ОКС. Они показали, что более низкий BI при выписке пациента может быть предиктором более высокой смертности у пациентов 85 лет и старше, при этом снижение показателя на каждые пять единиц ассоциируется с 1,1-кратным увеличением риска смертности в течение 1 года.

Помимо этого, к предикторам риска развития неблагоприятных цереброваскулярных эпизодов, по данным литературы, отнесена и шкала CHA2DS2VASc [51]. Пациентам 75 лет и старше дополнительно присваивают 2 балла по шкале, что в итоге делает их более компрометированными. Женский пол ассоциирован с дополнительным риском, что требует добавления 3 баллов на базовом уровне без добавления риска, связанного с другими сопутствующими заболеваниями по шкале и процедуре ЧКВ. Интересно отметить, что показатель CHA2DS2VASc, равный 2 или более, также был прогностическим показателем фибрилляции предсердий после коронарных вмешательств [44]. В *таблице* приведен обобщённый показатель CHA2DS2VASc при прогнозировании инсульта и фибрилляции предсердий у пожилых людей [10].

Аортокоронарное шунтирование

В настоящее время всё большее число пациентов старших возрастных групп подвергаются аортокоронарному шунтированию (АКШ) и имеют клиническую историю, характеризующуюся сложными коморбидными состояниями. Тем не менее,

Прогнозируемое значение шкалы CHA2DS2VASc для инсульта и фибрилляции предсердий у пожилых пациентов старше 75 лет на основе пола

Пациенты	Базовое значение шкалы относительно возраста и пола	Значение шкалы после добавления одного фактора риска	Верхний предел значения шкалы для фибрилляции предсердий	Риск развития инсульта при базовом значении шкалы, %	Риск развития инсульта после добавления одного фактора риска, %	Максимально возможное значение шкалы
Мужчины	2,0	3,0–4,0	≥3	2,2	3,2–4,0	8,0
Женщины	3,0	4,0–5,0	≥3	3,2	4,0–6,7	9,0

несмотря на увеличение доли пожилых пациентов с худшим профилем риска для выборки АКШ, смертность у пожилых пациентов за последние десятилетия резко снизилась [81]. Недавние исследования, включающие пациентов пожилого возраста, подвергавшихся АКШ, сообщили о 30-дневной смертности между 3,7 и 16,8 %, однолетней смертности между 8 и 10,8 % и пятилетней смертности от 28,4 до 31 % [25, 39, 58, 59, 62]. Хорошо известно, что 80-летние люди имеют более высокий риск послеоперационных осложнений [29], требуют больших клинических и экономических ресурсов, а также имеют более плохой прогноз по краткосрочной и долговременной выживаемости по сравнению с более молодыми пациентами. Тем не менее, развитие инновационных экстракорпоральных систем кровообращения, проведение АКШ без аппарата искусственного кровообращения и увеличение частоты применения маммарокоронарного шунтирования доказали свою эффективность в улучшении клинических исходов, хотя полностью и не решили все проблемы в этой популяции высокого риска [7, 8, 13, 18, 36, 47, 65].

Операция АКШ — это общепринятая стратегия реваскуляризации миокарда для пациентов с многососудистым поражением коронарных артерией. Тем не менее, у пациентов, подвергающихся АКШ, могут развиться периоперационные осложнения, такие как ИМ, кардиогенный шок, инсульт, острая почечная недостаточность и др. Раннее выявление осложнений после АКШ важно для проведения экстренных терапевтических стратегий ведения пациентов, таких как повторное исследование трансплантатов, немедленная коронарная ангиография с ЧКВ или без него, введение внутриаортального баллонного насоса и дополнительный мониторинг в отделении интенсивной терапии [34].

Сердечный тропонин закономерно повышен после операции АКШ и может быть следствием недостаточной защиты миокарда или ишемии миокарда, связанной с неадекватной реперфузией [3, 52, 80]. Поэтому остается не до конца ясным, как интерпретировать изменения уровня тропонина в послеоперационном периоде и имеют ли показатели сердечного тропонина выше референсных значений прогностическую ценность для оценки внутрибольничных осложнений после АКШ. Существующие исследования взаимосвязи повышения концентрации тропонина после АКШ и внутрибольничных осложнений также имеют важные ограничения [12, 31, 41, 43]. Во-первых, исследователи изучают пациентов, перенесших различные комбинации кардиохирургических процедур, в отличие от ограничения их анализа одним АКШ. Поскольку послеоперационное увеличение уровня тропонина варьируется в зависимости от конкретной сердечной хирургической процедуры [43], клиническая значимость этих исследований для пациентов, подвергающихся изолированной АКШ, ограничена [12, 31, 43]. Во-вторых, в ряде исследований основное внимание уделяется повышению уровня тропонина, измеренного в течение первых 24 ч [31, 42], таким образом, оценивается возможный периоперационный риск только спустя сутки от процедуры АКШ. Поэтому для улучшения клинических исходов у пациентов, перенесших АКШ, необходима более ранняя послеоперационная оценка уровня тропонина.

В ряде исследований оценивали связь измерения тропонина, проведенного через 12 ч после операции, и последующих внутрибольничных осложнений. В исследовании P. Eigel и соавт. уровень тропонина *I* (*TnI*) измеряли сразу же после АКШ у 540 пациентов, и если концентрация кардиомаркера выходила за референсный диапазон, такие случаи были ассоциированы с 17-кратным увеличением риска периоперационного ИМ или смерти [30]. В исследовании E. J. Fransen и соавт. содержание тропонина *T* измеряли между 8 и 16 ч после операции, результаты показали умеренную и высокую прогностическую ценность повышения уровня тропонина для оценки риска развития периоперационного ИМ [33]. Третье исследование было пилотным, проведенным V. Gober

и соавт. [37]. У 290 пациентов, подвергшихся изолированной АКШ, было продемонстрировано, что увеличение уровня сердечного тропонина *T* (*cTnT*) свыше 1 000 нг/л, измеренное в среднем через 8,1 ч после операции, было связано с 7-кратным увеличением внутрибольничных осложнений, включая периоперационный ИМ, длительную потребность в вазопрессорах и впервые выявленную почечную недостаточность. Авторы также сообщили, что верхний референсный предел в 800 нг/л для тропонина *T* является эффективным инструментом для выявления пациентов с высоким риском последующих осложнений. Несмотря на то, что показатели предоперационной шкалы риска EuroSCORE демонстрируют некоторую связь с постхирургическими результатами, в лучшем случае она является умеренной [34]. Желательно иметь инструмент уже на ранней послеоперационной стадии, позволяющий оценить течение послеоперационного периода пациента, что могло бы использоваться для быстрого принятия клинических решений.

Оригинальные шкалы верификации риска EuroSCORE и EuroSCORE II не обладают достаточной прогностической ценностью, чтобы дать точную оценку пациентам ⩾70 лет, перенесшим АКШ в эпоху современной кардиохирургии. В возрасте до 70 лет обе модели чувствительны, специфичны и имеют хорошую предиктивную силу [64].

EuroSCORE и EuroSCORE II были разработаны по результатам обследования пациентов со средним возрастом 62,5 и 64,9 года соответственно [23, 57]. Хорошо известно, что средний возраст пациентов, перенесших кардиохирургические вмешательства, увеличивается. Становится больше пациентов, имеющих большое число сопутствующих факторов риска, увеличивается доля пациентов, подвергающихся комбинированным процедурам замены клапана сердца и АКШ [6, 48]. Вывод о том, что ни одна из моделей стратификации риска не является точным инструментом в этой все более важной группе пациентов и операций, вызывает беспокойство, поскольку 40 % всех пациентов относятся к возрастной группе старше 70 лет [78, 79].

Кроме того, предполагается, что кальцификация аорты и диффузные атеросклеротические изменения стенок коронарных артерий важнее для определения смертности, чем многие из факторов риска, используемых для расчета EuroSCORE или EuroSCORE II. Ни один из этих факторов не включен в какие-либо модели риска, но оба часто встречаются у пожилых пациентов. Предполагается, что это также может помочь объяснить, почему шкалы работают недостаточно надежно у пациентов старше 70 лет [64].

Выводы

В результате обзора литературы авторы пришли к выводу о целесообразности проведения у пожилых пациентов с высоким риском острого коронарного синдрома без подъёма сегмента *ST* рутинной инвазивной тактики ведения. В то же время, необходимо помнить, что хрупкость связана с более высокими показателями неблагоприятных долгосрочных результатов после чрескожного коронарного вмешательства. Клиническая оценка хрупкости и ожидаемой пользы от процедуры всегда должна предшествовать решению о проведении коронарной ангиографии. При выборе доступа для коронарной ангиографии или чрескожного коронарного вмешательства, радиальный считается более предпочтительным, так как связан с более низкой частотой осложнений доступа и кровотечений.

Прогноз у пожилых пациентов, подвергнутых чрескожному коронарному вмешательству, будет хуже, чем у популяции в целом. Помимо смерти, существует более высокая вероятность развития множества осложнений данной процедуры, которые воздействуют на общий клинический исход и качество жизни пожилых пациентов по сравнению с более молодыми. Осложнение в виде кровотечения является одним из неблагоприятных клинических исходов чрескожного коронарного вмешательства. Повседневная деятельность пациентов пожилого возраста после чрескожного коронарного вмешательства может быть использована для прогнозирования смертности. Помимо этого, рекомендуется применение показателя CHA2DS2VASc в качестве предиктора риска развития неблагоприятных цереброваскулярных эпизодов.

Несмотря на увеличение доли пожилых пациентов с худшим профилем риска для выборки аортокоронарного шунтирования, смертность у данной категории за последние десятилетия резко снизилась. Развитие инновационных экстракорпоральных систем кровообращения, проведение аортокоронарного шунтирования без аппарата искусственного кровообращения и увеличение частоты применения маммарокоронарного шунтирования доказали свою эффективность в улучшении клинических исходов, в том числе у пациентов стар-

ших возрастных групп. Шкалы верификации риска EuroSCORE и EuroSCORE II у пациентов 70 лет и старше, перенесших аортокоронарное шунтирование, требуют внесения существенных изменений, в том числе принятие во внимание фактов кальцификации аорты и диффузных атеросклеротических изменений стенок коронарных артерий.

Литература

1. *Бабушкин С.А.* Пути технологического прогресса в лабораторной медицине // Клин. лаб. диагностика. 2014. № 9. С. 16–17.

2. *Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г.* Болезни системы кровообращения и сердечно-сосудистая хирургия в Российской Федерации. Состояние и проблемы // Аналит. вестн. 2015. Т. 597. № 44. С. 9–18.

3. *Диагностика* и лечение больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы: Клинические рекомендации / Сост. М.Я.Руда и др. М., 2013.

4. *Здравоохранение* в России, 2017: Стат. сб. Росстат. М., 2017.

5. *Поликарпов А.В.* Динамика смертности в Российской Федерации в сопоставлении с некоторыми странами мира, 2017. URL: https://nacmedpalata.ru/files/reports/ktjabrjaversija2.ppt (дата обращения 27.02.2019).

6. *Akins C.W., Daggett W.M., Vlahakes G.J. et al.* Cardiac operations in patients 80 years old and older // Ann. Thorac. Surg. 1997. Vol. 64. P. 606–614.

7. *Al-Jughiman M., Algarni K., Yau T.* Outcomes of isolated reoperative coronary artery bypass grafting in elderly patients // J. Card. Surg. 2015. Vol. 30. P. 41–46.

8. *Altarabsheh S.E., Deo S.V., Rababa'h A.M. et al.* Off-pump coronary artery bypass reduces early stroke in octogenarians: a meta-analysis of 18.000 patients // Ann. Thorac. Surg. 2015. Vol. 99. P. 1568–1575.

9. *Antonsen L., Jensen L.O., Terkelsen C.J. et al.* Outcomes after primary percutaneous coronary intervention in octogenarians and nonagenarians with ST-segment elevation myocardial infarction: from the Western Denmark heart registry // Catheter Cardiovasc. Interv. 2013. Vol. 81. P. 912–919.

10. *Arisha M., Ibrahim D., Abouarab A. et al.* Percutaneous coronary intervention in the elderly: current updates and trends // Vessel Plus. 2018. Vol. 2. № 7. P. 14.

11. *Bach R.G., Cannon C.P., Weintraub W.S. et al.* The effect of routine, early invasive management on outcome for elderly patients with non–ST-segment elevation acute coronary syndromes // Ann. intern. Med. 2004. Vol. 141. P. 189–195.

12. *Baggish A.L., MacGillivray T.E., Hoffman W.* et al. Postoperative troponin-T predicts prolonged intensive care unit length of stay following cardiac surgery // Crit. Care Med. 2004. Vol. 32. P. 1866–1871.

13. *Barsoum E.A., Azab B., Shah N. et al.* Long-term mortality in minimally invasive compared with sternotomy coronary artery bypass surgery in the geriatric population (75 years and older patients) // Europ. J. Cardiothorac. Surg. 2015. Vol. 47. P. 862–867.

14. *Batchelor W.B., Anstrom K.J., Muhlbaier L.H. et al. Contemporary* outcome trends in the elderly undergoing percutaneous coronary interventions: results in 7,472 octogenarians // J. Amer. Coll. Cardiol. 2000. Vol. 36. P. 723–730.

15. *Bavishi C., Panwar S., Dangas G. et al.* Meta-Analysis of Radial Versus Femoral Access for Percutaneous Coronary Interventions in Non–ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome // Amer. J. Cardiol. 2016. Vol. 117. № 2. P. 172–178.

16. *Becker R.C.* Thrombotic preparedness in aging: a translatable construct for thrombophilias? // J. Thromb. Thrombolysis. 2007. Vol. 24. P. 323–325.

17. *Belardi J., Manoharan G., Albertal M.* et al. The influence of age on clinical outcomes in patients treated with the resolute zotarolimus-eluting stent // Catheter Cardiovasc. Interv. 2016. Vol. 87. P. 253–261.

18. *Benedetto U., Amrani M., Raja S.G. et al.* Guidance for the use of bilateral internal thoracic arteries according to survival benefit across age groups // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2014. Vol. 148. P. 2706–2711.

19. *Bromage D.I., Jones D.A., Rathod K.S.* et al. Outcome of 1051 octogenarian patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: observational cohort from the London Heart Attack Group // J. Amer. Heart Ass. 2016. Vol. 5. P. e003027.

20. *Buber J., Goldenberg I., Kimron L. et al.* One-year outcome following coronary angiography in elderly patients with non-ST elevation myocardial infarction: real-world data from the Acute Coronary Syndromes Israeli Survey (ACSIS) // Coron. Artery Dis. 2013. Vol. 24. P. 102–109.

21. *Cantor W., Mehta S., Yuan F. et al.* Radial versus femoral access for elderly patients with acute coronary syndrome undergoing coronary angiography and intervention: insights from the RIVAL trial // Amer. Heart J. 2015. Vol. 170. № 5. P. 880–886.

22. *Caretta G., Passamonti E., Pedroni P.N. et al.* Outcomes and predictors of mortality among octogenarians and older with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary coronary angioplasty // Clin. Cardiol. 2014. Vol. 37. P. 523–529.

23. *Chalmers J., Pullan M., Fabri B. et al.* Validation of EuroSCORE II in a modern cohort of patients undergoing cardiac surgery // Europ. J. Cardiothorac. Surg. 2013. Vol. 43. P. 688–694.

24. *Damman P., Clayton T., Wallentin L. et al.* Effects of age on long-term outcomes after a routine invasive or selective invasive strategy in patients presenting with non-ST segment elevation acute coronary syndromes: a collaborative analysis of individual data from the FRISC II -ICTUS -RITA-3 (FIR) trials // Heart. 2012. P. 98. P. 207–213.

25. *Davis J.P., LaPar D.J., Crosby I.K. et al.* Nonagenarians undergoing cardiac surgery // J. Card. Surg. 2014. Vol. 29. P. 600–604.

26. *De Gregorio J., Kobayashi Y., Albiero R.* et al. Coronary artery stenting in the elderly: short-term outcome and long-term angiographic and clinical follow-up // J. Amer. Coll. Cardiol. 1998. Vol. 32. P. 577–583.

27. *Devlin G., Gore J.M., Elliott J. et al.* Management and 6-month outcomes in elderly and very elderly patients with high-risk non-ST-elevation acute coronary syndromes: The Global Registry of Acute Coronary Events // Europ. Heart J. 2008. Vol. 29. P. 1275–1282.

28. *Di Bari M., Balzi D., Fracchia S. et al.* Decreased usage and increased effectiveness of percutaneous coronary intervention in complex older patients with acute coronary syndromes // Heart. 2014. Vol. 100. P. 1537–1542.

29. *Ding W., Ji Q., Shi Y. et al.* Predictors of low cardiac output syndrome after isolated coronary artery bypass grafting // Int. Heart J. 2015. Vol. 56. P. 144–149.

30. *Eigel P., Van Ingen G., Wagenpfeil S.* Predictive value of perioperative cardiac troponin I for adverse outcome in coronary artery bypass surgery // Europ. J. Cardiothorac. Surg. 2001. Vol. 20. P. 544–549.

31. *Fellahi J.L., Gue X., Richomme X. et al.* Short- and long-term prognostic value of postoperative cardiac troponin I concentration in patients undergoing coronary artery bypass grafting // Anesthesiology. 2003. Vol. 9. P. 270–274.

32. *Franchini M.* Hemostasis and aging // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2006. Vol. 60. P. 144–151.

33. *Fransen E.J., Diris J.H., Maessen J.G. et al.* Evaluation of «new» cardiac markers for ruling out myocardial infarction after coronary artery bypass grafting // Chest. 2002. Vol. 122. P. 1316–1321.

34. *Gahl B., Göber V., Odutayo A. et al.* Prognostic value of early postoperative troponin T in patients undergoing coronary

artery bypass grafting // J. Amer. Heart Ass. 2018. Vol. 7. № 5. P. e007743.

35. Garg S., Sarno G., Garcia-Garcia H.M. et al. A new tool for the risk stratification of patients with complex coronary artery disease: the Clinical SYNTAX Score // Circ. Cardiovasc. Interv. 2010. Vol. 3. P. 317–326.

36. Gatti G., Dell'Angela L., Benussi B. et al. Bilateral internal thoracic artery grafting in octogenarians: where are the benefits? // Heart Vessels. 2016. Vol. 31. P. 702–712.

37. Gober V., Hohl A., Gahl B. et al. Early troponin T and prediction of potentially correctable in-hospital complications after coronary artery bypass grafting surgery // PLoS One. 2013. Vol. 8. P. e74241.

38. Hamonangan R., Wijaya I.P., Setiati S., Harimurti K. Impact of frailty on the first 30 days of major cardiac events in elderly patients with coronary artery disease undergoing elective percutaneous coronary intervention // Acta. Med. Indones. 2016. Vol. 48. P. 91–98.

39. Hannan E.L., Zhong Y., Berger P.B. et al. Comparison of intermediate-term outcomes of coronary artery bypass grafting versus drug-eluting stents for patients 75 years of age // Amer. J. Cardiol. 2014. Vol. 113. P. 803–808.

40. Higuchi S., Kabeya Y., Matsushita K. et al. Barthel index as a predictor of 1-year mortality in very elderly patients who underwent percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome: better activities of daily living, longer life // Clin. Cardiol. 2016. Vol. 39. P. 83–89.

41. Holmvang L., Jurlander B., Rasmussen C. et al. Use of biochemical markers of infarction for diagnosing perioperative myocardial infarction and early graft occlusion after coronary artery bypass surgery // Chest. 2002. Vol. 121. P. 103–111.

42. Holmvang L., Jurlander B., Rasmussen C. et al. Use of biochemical markers of infarction for diagnosing perioperative myocardial infarction and early graft occlusion after coronary artery bypass surgery // Chest. 2002. Vol. 121. P. 103–111.

43. Januzzi J.L., Lewandrowski K., MacGillivray T.E. et al. A comparison of cardiac troponin T and creatine kinase-MB for patient evaluation after cardiac surgery // J. Amer. Coll. Cardiol. 2002. Vol. 39. P. 1518–1523.

44. Kashani R.G., Sareh S., Genovese B. et al. Predicting postoperative atrial fibrillation using CHA2DS2-VASc scores // J. Surg. Res. 2015. Vol. 198. № 2. P. 267–272.

45. Kitabata H., Kubo T., Mori K. et al. Safety and efficacy outcomes of second generation everolimus-eluting stents in octogenarians compared to non-octogenarians // Cardiovasc. Revascular. Med. molec. Interv. 2018. Vol. 19. P. 12–16.

46. Knight C.J., Panesar M., Wright C. et al. Altered platelet function detected by flow cytometry: effects of coronary artery disease and age // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1997. Vol. 17. P. 2044–2053.

47. Kolat P., Ried M., Haneya A. et al. Impact of age on early outcome after coronary bypass graft surgery using minimized versus conventional extracorporeal circulation // J. Cardiothorac. Surg. 2014. Vol. 9. P. 143.

48. Krane M., Voss B., Hiebinger A. et al. Twenty years of cardiac surgery in patients aged 80 years and older: risks and benefits // Ann. Thorac. Surg. 2011. Vol. 91. P. 506–513.

49. Malkin C.J., Prakash R., Chew D.P. The impact of increased age on outcome from a strategy of early invasive management and revascularisation in patients with acute coronary syndromes: retrospective analysis study from the ACACIA register // Brit. med. J. Open. 2012. Vol. 2. P. 1–7.

50. Mehta S.R., Granger C.B., Boden W.E. et al. Early versus delayed invasive intervention in acute coronary syndromes // New Engl. J. Med. 2009. Vol. 360. P. 2165–2175.

51. Melgaard L., Gorst-Rasmussen A., Lane D.A. et al. Assessment of the CHA2DS2-VASc Score in Predicting Ischemic Stroke, Thromboembolism, and Death in Patients With Heart Failure With and Without Atrial Fibrillation // J.A.M.A. 2015. Vol. 314. № 10. P. 1030–1038.

52. Mohammed A.A., Agnihotri A.K., Van Kimmenade R.R. et al. Prospective, comprehensive assessment of cardiac troponin T testing after coronary artery bypass graft surgery // Circulation. 2009. Vol. 120. P. 843–850.

53. Mohr F.W., Morice M.C., Kappetein A.P. et al. Coronary artery bypass graft surgery versus percutaneous coronary intervention in patients with three-vessel disease and left main coronary disease: 5-year follow-up of the randomised, clinical SYNTAX trial // Lancet. 2013. Vol. 381. № 9867. P. 629–638.

54. Montalescot G., Cayla G., Collet J.P. et al. Immediate vs delayed intervention for acute coronary syndromes: a randomized clinical trial // J.A.M.A. 2009. Vol. 302. P. 947–954.

55. Moscucci M., Fox K.A., Cannon C.P. et al. Predictors of major bleeding in acute coronary syndromes: the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) // Europ. Heart J. 2003. Vol. 24. P. 1815–1823.

56. Nakanishi R., Li D., Blaha M.J. et al. All-cause mortality by age and gender based on coronary artery calcium scores // Europ. Heart J. Cardiovasc. Imaging. 2016. Vol. 17. № 11. P. 1305– 1314.

57. Nashef S.A., Roques F., Michel P. et al. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE) // Europ. J. Cardiothorac. Surg. 1999. Vol. 16. P. 9–13.

58. Nicolini F., Contini G.A., Fortuna D. et al. Coronary artery surgery versus percutaneous coronary intervention in octogenarians: long-term results // Ann. Thorac. Surg. 2015. Vol. 99. P. 567–574.

59. Nicolini F., Molardi A., Verdichizzo D. et al. Coronary artery surgery in octogenarians: evolving strategies for the improvement in early and late results // Heart Vessels. 2012. Vol. 27. P. 559–567.

60. Nicoll R., Wiklund U., Zhao Y. et al. Gender and age effects on risk factor-based prediction of coronary artery calcium in symptomatic patients: A Euro-CCAD study // Atherosclerosis. 2016. Vol. 252. P. 32–39.

61. Ong A.T., Serruys P.W., Mohr F.W. et al. The SYNergy between percutaneous coronary intervention with TAXus and cardiac surgery (SYNTAX) study: design, rationale, and run-in phase // Amer. Heart J. 2006. Vol. 151. № 6. P. 1194–11204.

62. Ozen A., Unal E.U., Songur M. et al. Coronary artery bypass grafting in the octogenarians: should we intervene, or leave them be? // J. Geriat. Cardiol. 2015. Vol. 12. P. 147–152.

63. Popma J.J., Satler L.F., Pichard A. et al. Vascular complications after balloon and new device angioplasty // Circulation. 1993. Vol. 88. P. 1569–1578.

64. Poullis M., Pullan M., Chalmers J., Mediratta N. The validity of the original EuroSCORE and EuroSCORE II in patients over the age of seventy // Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg. 2014. Vol. 20. № 2. P. 172–177.

65. Raja S.G. Myocardial revascularization for the elderly: current options, role of off-pump coronary artery bypass grafting and outcomes // Curr. Cardiol. Rev. 2012. Vol. 8. P. 26–36.

66. Reid I., Birstow S., Bolland M. Calcium and Cardiovascular Disease // Endocr. Metab. 2017. Vol. 32. № 3. P. 339.

67. Sanchis J., Nunez E., Barrabes J.A. et al. Randomized comparison between the invasive and conservative strategies in comorbid elderly patients with non-ST elevation myocardial infarction // Europ. J. Intern. Med. 2016. Vol. 35. P. 89–94.

68. Savonitto S., Cavallini C., Petronio A.S. et al. Italian Elderly ACS Trial Investigators. Early aggressive versus initially conservative treatment in elderly patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome: a randomized controlled trial JACC // Cardiovasc. Intervent. 2012. Vol. 5. P. 906–916.

69. Scherff F., Vassalli G., Sürder D. et al. The SYNTAX score predicts early mortality risk in the elderly with acute coronary syndrome having primary PCI // J. Invasive Cardiol. 2011. Vol. 23. P. 505–510.

70. Serruys P.W., Morice M.C., Kappetein A.P. et al. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease.; SYNTAX Investigators // New Engl. J. Med. 2009. Vol. 360. № 10. P. 961–972.

71. Singh M., Rihal C. S., Lennon R. J. et al. Influence of frailty and health status on outcomes in patients with coronary disease undergoing percutaneous revascularization // Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes. 2011. Vol. 4. P. 496–502.

72. Spagnoli V., De Hemptinne Q., Nosair M., Gosselin G. Percutaneous coronary intervention in nonagenarians: prevalence, indications, vascular approach and mortality at 3 months // J. Cardiovasc. Dis. Diagn. 2016. Vol. 4. P. 239.

73. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L. et al. Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans // Hypertension. 2001. Vol. 38. P. 274–279.

74. Tegn N., Abdelnoor M., Aaberge L. et al. Invasive versus conservative strategy in patients aged 80 years or older with non-ST-elevation myocardial infarction or unstable angina pectoris (After Eighty study): an open-label randomised controlled trial // Lancet. 2016. Vol. 387. P. 1057–1065.

75. Thiele H., Rach J., Klein N. et al. Optimal timing of invasive angiography in stable non-ST-elevation myocardial infarction: the Leipzig Immediate versus early and late PercutaneouS coronary Intervention triAl in NSTEMI (LIPSIA-NSTEMI Trial) // Europ. Heart J. 2012. Vol. 33. P. 2035–2043.

76. Tofler G. H., Massaro J., Levy D. et al. Relation of the prothrombotic state to increasing age (from the Framingham Offspring Study) // Amer. J. Cardiol. 2005. Vol. 96. P. 1280–1283.

77. Valgimigli M., Serruys P. W., Tsuchida K. et al. Cyphering the complexity of coronary artery disease using the SYNTAX score to predict clinical outcome in patients with three-vessel lumen obstruction undergoing percutaneous coronary intervention // Amer. J. Cardiol. 2007. Vol. 99. P. 1072–1081.

78. Vanhuyse F., Maureira P., Folliguet T., Villemot J. P. Predictive value of five risk scores to predict outcomes after aortic valve replacement in octogenarians // J. Heart Valve Dis. 2013. Vol. 22. P. 517–523.

79. Wendt D., Osswald B. R., Kayser K. et al. Society of Thoracic Surgeons score is superior to the EuroSCORE determining mortality in high risk patients undergoing isolated aortic valve replacement // Ann. Thorac. Surg. 2009. Vol. 88. P. 468–474.

80. White H. D. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? // J. Amer. Coll. Cardiol. 2011. Vol. 57. P. 2406–2408.

81. Yanagawa B., Algarni K. D., Yau T. M. et al. Improving results for coronary artery bypass graft surgery in the elderly // Europ. J. Cardiothorac. Surg. 2012. Vol. 42. P. 507–512.

Поступила в редакцию 27.02.2019
После доработки 29.04.2019
Принята к публикации 07.05.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 976–984

A. S. Pushkin [1, 2, 3]

PERSONIFIED MONITORING OF ACUTE CORONARY SYNDROME AND ITS OUTCOMES IN ELDERLY PATIENTS. REPORT 2. INVASIVE DIAGNOSTIC AND TREATMENT METHODS (REVIEW)

[1] Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3 Dynamo pr., St. Petersburg 197110,
e-mail: pushkindoc@mail.ru; [2] City Hospital № 2, 5 Uchebniy per., St. Petersburg 194354;
[3] I. P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, 6–8 str. L'va Tolstogo, St. Petersburg 197022

Literature review describes the features of diagnosis and monitoring of elderly and senile patients with coronary heart disease, that will undergoing coronary angiography, percutaneous coronary intervention or coronary artery bypass surgery. Review notes the advantage of the routine invasive strategy in elderly patients with a high risk of NSTEMI. The authors recommend a preliminary assessment of frailty before coronary angiography. Radial access for coronary angiography or percutaneous coronary intervention is considered preferable. It has lower frequency of access and bleeding complications. Daily activity of elderly patients after PCI should be used to predict mortality. CHA2DS2VASc as a predictor of the risk of adverse cerebrovascular episodes is recommended in addition. Aortic calcification and diffuse atherosclerotic changes in the walls of the coronary arteries are important factors in the risk verification scales EuroSCORE and EuroSCORE II in patients after 70 years who underwent CABG intervention.

Key words: *coronary angiography, elderly and senile patients, personification, percutaneous coronary interventions, coronary artery bypass grafting*

© Ю. В. Нестеров, 2019
УДК 612.27:611.24.018-053:599.323.4

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 985–989

Ю. В. Нестеров

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ И СУРФАКТАНТА НА ГИПОБАРИЧЕСКУЮ ГИПОКСИЮ И ГИПЕРБАРИЧЕСКУЮ ГИПЕРОКСИЮ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Астраханский государственный университет, 414056, Астрахань, ул. Татищева, 20а, e-mail: nest.jv@mail.ru

В эксперименте на белых крысах разного постнатального возраста (4-недельных, 2-месячных и старых 24-месячных) проведен сравнительный анализ морфометрических изменений легочной ткани с одновременной оценкой стабильности сурфактанта при экзогенной гипоксии и гипербарической оксигенации. Методами световой микроскопии и системного количественного анализа изучены морфометрические показатели, описана общая морфологическая картина легочной ткани и дана оценка стабильности альвеолярного выстилающего комплекса методом Pattl. Исследования показали, что после гипо- и гипероксического воздействия развивается комплекс структурных изменений: неоднородность и увеличение воздушности легочной ткани, ширины межальвеолярных перегородок, толщины бронхиальных и сосудистых стенок, степень и выраженность которых зависит от возраста. Выявлено повышение стабильности сурфактанта у всех животных опытных групп, за исключением 2-месячных крыс, подвергнутых гипоксическому воздействию. У интактных животных отмечено закономерное увеличение с возрастом морфометрических показателей.

Ключевые слова: морфометрические показатели легочной ткани, сурфактант, гипоксия, гипероксия, возраст

Вопросы значимости изменений, возникающих в различных системах организма при резких изменениях кислородного режима, создания методов повышения устойчивости к действию экзогенной гипо- и гипероксии, механизмов токсического влияния кислорода, а также адаптации к воздействию этих факторов и ее проявлениях по-прежнему являются актуальными для современной физиологии и практической медицины. Наряду с этим, легочную ткань из-за многочисленных альвеол, их сурфактантной выстилки и капиллярно-альвеолярных контактов рассматривают как одну из наиболее обширных биологических «мембран» в организме, внешняя поверхность которой постоянно и непосредственно контактирует с окружающей средой и подвергается прямому действию ее неблагоприятных факторов, в том числе изменениям кислородного режима [3, 11, 16, 17, 21]. Гипоксия, являясь одним из ведущих звеньев развития стресс-реакции любого генеза, и широко применяемая в современной медицине гипербарическая оксигенация могут отражаться на структуре аэрогематического барьера, функциональном состоянии сурфактантной системы и гистоструктуре респираторных отделов легкого [7, 12, 13, 18]. Вместе с тем, изучение особенностей реакций организма на экстремальные воздействия невозможно без решения общих и частных вопросов в области онтогенетических механизмов развития. Степень влияния экстремального фактора на любую систему организма зависит не только от его природы и интенсивности воздействия, но и от морфофункционального состояния самой биологической системы, которое, в свою очередь, определяется стадией онтогенеза [12, 15]. Общеизвестны возрастные изменения респираторной системы, неравномерность и гетерогенность ее развития [8, 12]. В то же время, изучение возрастных особенностей стресс-реактивности респираторных отделов может иметь, кроме теоретического, диагностическое и, отчасти, прогностическое значение для оценки биологической зрелости респираторной системы и ее способности к адаптации.

Цель исследования — проведение сравнительного изучения изменений ряда морфологических показателей легочной ткани с одновременной оценкой стабильности альвеолярного выстилающего комплекса у крыс разного постнатального возраста при острых гипоксическом и гипероксическом воздействиях.

Материалы и методы

Исследования проводили на 72 белых беспородных крысах-самцах в трех сериях опытов на трех возрастных группах животных: неполовозрелые 28-дневного возраста средней массой 65 г, половозрелые 2-месячного возраста средней массой

210 г, старые 24-месячного возраста средней массой 345 г. В соответствии с возрастной классификацией лабораторных крыс [4], использованные в наших опытах крысы по возрасту соответствуют неполовозрелым, половозрелым и старым животным. Работа выполнена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Европейской конвенцией по защите экспериментальных животных (Derective 2010/63/EU of 22 September 2010).

Животные были разделены на три группы: 1-я —контрольная; 2-я — крысы, которые подвергались однократному воздействию экзогенной, гипобарической гипоксии; 3-я — крысы, которые подвергались воздействию гипербарической гипероксии. По окончании опытов животных декапитировали после предварительной наркотизации внутрибрюшинным введением нембутала в дозе 4 мг/100 г массы тела. Острую гипоксию моделировали с помощью аппарата Комовского. Крысу помещали в камеру, после чего при помощи насоса откачивали воздух из-под стеклянного колпака, при этом давление воздуха определяли по вакуумманометру. При давлении 0,3 атм крысы находились в течение 30 мин. Действию гипербарической гипероксии крысы подвергались в барокамере (бароаппарат одноместный медицинский «ОКА-МТ-С») при 1,5 атм в течение 1 ч. После декапитации вскрывали грудную полость и отпрепаровывали легкие для последующего морфометрического и физико-химического анализа.

Для светоскопического исследования и оценки морфологической картины получали гистопрепараты ткани легкого. Из различных участков легких выделяли кусочки ткани размером в среднем 0,5 см, которые фиксировали в 5 % растворе формальдегида на фосфатном буфере (*pH* 7,4) и готовили парафиновые блоки, изготовляли парафиновые срезы толщиной 5—10 мкм. Проводили окраску гематоксилином и эозином [14]. Морфометрическое исследование проведено в соответствии с принципами системного количественного анализа [1], для чего использовали автоматическую систему обработки изображений «Видеотест-Морфо 3.0» (Россия). Дифференцированному исследованию были подвергнуты участки вблизи корня легкого, а также сегменты, расположенные в каудальном, краниальном и латеральном направлениях от него. Рассчитывали объемную долю (мкм^3/мкм^3) воздушного пространства (воздушность легочной ткани, %), ширину межальвеолярных перегородок (мкм), относительную толщину сосудистой стенки и бронхиальной стенки, которые выражали в процентах от наружного диаметра. Для определения объемной доли воздушного пространства использовали метод наложения точечных сеток на срезы с последующим подсчетом числа совпадений точек с альвеолярными перегородками. Доля точек, попавших на структурные профили ($V_{вт}$), оценивает их относительный объем: $V_{вт}=V_а/V_о$, где $V_а$ — число точек, попавших на альвеолярные перегородки; $V_о$ — общее число точек тестовой системы.

О функциональной стабильности альвеолярного выстилающего комплекса судили по коэффициенту стабильности пузырьков воздуха, выжатых из легочной ткани по методу Pattl [12]. Пузырьки полученной пены исследовали в висячей капле под микроскопом с помощью окулярного микрометра. Коэффициент стабильности, определяемый как отношение диаметра пузырька в конце наблюдения к его диаметру в начале наблюдения, находили по формуле: $\Sigma D_{20}^2/\Sigma D_0^2$, где D_{20} — диаметр пузырьков после 20-минутного периода, мкм; D_0 — диаметр пузырьков в начале наблюдения, мкм. Коэффициент стабильности выражали в условных единицах. Весь экспериментальный материал обрабатывали статистически с вычислением средней арифметической, ошибки средней, достоверности различий по критерию Стьюдента и проведением дисперсионного анализа с вычислением достоверности силы влияния по Фишеру [9].

Результаты и обсуждение

Результаты исследования демонстрируют изменение морфометрических показателей легких в ходе возрастной инволюции. Наиболее показательны результаты возрастной динамики в сторону увеличения значений толщины сосудистых стенок, которая повышается по сравнению с предпубертатными животными на 8,5 и 44,4 % у 2-месячных и старых крыс соответственно, увеличения межальвеолярных перегородок на 20 и 23 % у 2-й и 3-й возрастных групп по сравнению с крысятами соответственно (*табл. 1*). В легких крысят и взрослых 2-месячных животных определяли типичного строения бронхи с равномерными по высоте и ширине складками, призматический эпителий, цитоплазму с гомогенной эозинофилией, однородную по интенсивности окрашивания и ширине мышечную пластинку, однородный и распределенный относительно равномерно клеточный состав межальвеолярного матрикса. Величина альвеолярного пространства колебалась в пределах 80—200 мкм,

Таблица 1

Морфометрические показатели легочной ткани и стабильности альвеолярного сурфактантного комплекса у разновозрастных крыс при гипо- и гипероксии

Возраст	Группа	Воздушность легочной ткани, %	Ширина межальвеолярных перегородок, мкм	Толщина бронхиальной стенки, %	Толщина сосудистой стенки, %	Коэффициент стабильности сурфактанта, усл. ед.
4 нед	1-я	22,2±8,3	20,0±0,7[3)*]	13,1±0,5[3)*]	11,9±1,6	0,78±0,01[3)*]
	2-я	24,4±8,6	28,9±6,9	16,9±3,7	37,0±8,9[1)*]	0,92±0,05[1)*, 3)*]
	3-я	24,4±6,1	35,0±3,5[1)*,3)*]	28,0±7,5[1)*]	30,0±4,8[1)*]	0,81±0,006[3)*]
2 мес	1-я	20±2,5	25,0±1,3[2)*]	15,0±0,8[2)*]	13,0±2,1	0,88±0,021[2)*]
	2-я	18,6±3,2	30,0±8,1	25,0±6,3[1)*]	30,0±4,2[1)*]	0,79±0,031[1)*, 2)*]
	3-я	22,6±5,2	43,7±2,8[2)*]	18,3±6,8	35,0±3,3[1)*]	0,97±0,04[1)*]
24 мес	1-я	22,0±3,6	26,0±4,7	15,0±4,6	21±3,2[2)*, 3)*]	0,88±0,021[2)*]
	2-я	24,2±4,1	32,1±2,8	21,0±5,1	26,7±4,2	0,91±0,009[3)*]
	3-я	25,0±4,7	32,8±7,2	19,0±6,1	38,3±7[1)*]	0,94±0,022[1)*, 2)*]

[1)*] Разница достоверна при $p<0,05–0,001$ в сравнении с контрольными значениями; [2)*] $p<0,05–0,001$ в сравнении с неполовозрелыми животными; [3)*] $p<0,05–0,001$ в сравнении с животными 2-месячного возраста.

контуры стенок артерий разного диаметра четкие и гомогенно окрашенные, толщина сосудистой стенки не превышала 11—13 % от наружного диаметра. Вместе с тем, в группе старых животных контрольной группы отмечали сглаженные или деформированные складки слизистой оболочки бронхов, призматический эпителий частично замещенный плоским, не всегда различимые мышечная и собственная пластинки, размеры альвеолярного пространства колеблись в пределах 80—400 мкм, ширина межальвеолярных перегородок превышала таковую у молодых животных, ширина перегородок в пределах одной альвеолы неодинаковая, встречались участки истончения, но целостность их сохранена. Признаки нарушения кровоснабжения в ткани не отмечены. Проведенный анализ поверхностной активности альвеолярной выстилки у крыс контрольной группы показал, что коэффициент стабильности легочных пузырьков имеет одинаковые значения у 2-месячных и старых животных и превышает его величину у неполовозрелых крысят на 12 % (см. табл. 1).

При моделировании острой гипоксии выявлено развитие комплекса изменений легочной ткани и стабильности сурфактантного комплекса. Реакция легочных сосудов на гипоксию была неравнозначной: часть сосудов была в состоянии вазоконстрикции, что проявлялось в увеличении толщины сосудистой стенки, которая была наибольшей у неполовозрелых крыс по сравнению с 2-месячными и старыми животными. Заметно увеличились ширина межальвеолярных перегородок и толщина бронхиальных стенок у старых крыс — на 18 и 29 % соответственно (см. табл. 1). После извлечения крыс из аппарата Комовского выявлено повышение стабильности сурфактанта у предпубертатных и старых животных на 18 % ($p<0,001$) и 4 % ($p<0,05$) соответственно. У животных 2-месячного возраста гипоксическое воздействие привело к снижению данного показателя на 11 % ($p<0,05$).

Далее выявлены возрастные различия в ответной реакции легочной ткани на гипербарическую гипероксию. Так, у 2-месячных и старых животных после извлечения из барокамеры отмечено увеличение толщины бронхиальных стенок. Наблюдали выраженную тенденцию к увеличению воздушности легочной ткани у всех возрастных групп животных. Отмечено, что в среднем ширина межальвеолярных перегородок достигала максимального значения у крыс 2-месячного возраста. При этом, в отличие от экзогенной гипоксии, после гипербарооксигенации, напротив, коэффициент стабильности легочных пузырьков был значительно выше у взрослых и старых крыс по сравнению с крысятами, превышая контрольные значения (см. табл. 1).

Для изучения статистического влияния возрастного фактора на исследуемые параметры проведен дисперсионный анализ полученных данных. Сила влияния возраста на изменение воздушности легочной ткани, ширины межальвеолярных перегородок и коэффициента стабильности легочных пузырьков была достоверно высокой у животных контрольной группы (*табл. 2*). Влияние возраста на динамику изученных параметров в условиях острого недостатка кислорода была также высока, исключая толщину бронхиальных стенок. Особенно выражено влияние возрастного фактора на ширину межальвеолярных перегородок и воздушность ткани легкого. Анализ возраст-

Таблица 2

Результаты дисперсионного анализа в опытах по изучению влияния возраста на морфометрические показатели и стабильность сурфактанта легких у крыс трех групп

Показатель	Сила влияния (ηx^2) в долях от единицы					
	1-я группа	*p*	2-я группа	*p*	3-я группа	*p*
Воздушность легочной ткани	0,78±0,04	<0,001	0,68±0,04	<0,01	0,24±0,08	>0,05
Ширина межальвеолярных перегородок	0,65±0,03	<0,001	0,88±0,06	<0,001	0,45±0,02	<0,05
Толщина бронхиальной стенки	0,23±0,008	>0,05	0,18±0,007	>0,05	0,44±0,02	<0,05
Толщина сосудистой стенки	0,18±0,04	>0,05	0,46±0,009	<0,05	0,54±0,06	<0,001
Коэффициент стабильности легочных пузырьков	0,91±0,12	<0,001	0,87±,08	<0,001	0,65±0,07	<0,001

Примечание. *p* — достоверность силы влияния по Фишеру.

ного влияния при гипербарической оксигенации выявил его достоверную силу для показателей ширины межальвеолярных перегородок, толщины бронхиальных и сосудистых стенок. При этом возрастной фактор оказал достоверное влияние на изменение стабильности пузырьков пены, выжатых из легких, как в условиях фоновой активности, так и при гипо- и гипероксическом воздействии (см. табл. 2).

Как известно, некоторые характерные морфологические изменения в ткани легкого и структурно-функциональные нарушения сурфактантной системы являются критерием оценки и одними из главных признаков развития респираторного дистресс-синдрома, характеризующего скорость развития дыхательной недостаточности [3, 5, 19]. Данные ряда авторов свидетельствуют о том, что центральным звеном развития синдрома острого повреждения легких является воспалительная реакция, которая может развиваться не только при инфекционных поражениях, но и после тяжелых травм, шока различного генеза и других критических состояний [2, 6]. Описаны морфологические признаки таких состояний, прежде всего касающиеся изменений легочной паренхимы, микроциркуляторного сосудистого русла, альвеолокапиллярных отношений, возникновения участков ателектаза, транссудации плазмы и клеточной инфильтрации в альвеолярное пространство [11]. Характерные морфологические нарушения в легких выявлены и в наших исследованиях при моделировании экзогенной гипоксии и гипероксии. Результаты демонстрируют повышение неоднородности и воздушности легочной ткани, значительное увеличение толщины бронхиальной стенки, ширины межальвеолярных перегородок и толщины сосудистых стенок, выраженность которых имеет возрастную специфику.

Исследованиями ряда авторов установлено, что действие экстремальных, шокогенных факторов активирует комплемент, в результате чего выделяются анафилотоксины, влияющие на подвижность клеток белой крови. Агрегаты активированных гранулоцитов прилипают к эндотелию сосудов и дегранулируются с высвобождением гидролаз и оксидантов, которые могут повреждать мембраны аэрогематического барьера и вызывать быстрое повышение его проницаемости для различных компонентов плазмы [5]. Их выход во внутриальвеолярное пространство приводит к механической деструкции, перекисному окислению и ферментативному расщеплению внеклеточных фосфолипопротеидов, взаимодействию их с фибриногеном, формированию гиалиновых мембран, что ведет к морфологическим изменениям легочной ткани в целом [3, 6]. Эти изменения, несомненно, могут коррелировать с резким снижением поверхностной активности легочного сурфактанта [10, 12, 20]. В ходе нашего исследования, наряду с вышеописанными морфологическими изменениями ткани легкого, показано, что только острая гипоксия и только у взрослых 2-месячных крыс привела к резкому снижению функциональной стабильности сурфактанта, что свидетельствует о достаточной стабильности и стресс-устойчивости сурфактантной системы легких [12, 16, 21].

Заключение

Таким образом, исследования показали закономерное повышение с возрастом значений ширины межальвеолярных перегородок, толщины сосудистых и бронхиальных стенок и стабильности легочного сурфактанта, что подтверждается результатами дисперсионного однофакторного анализа. При острой гипоксии возрастзависимые изменения заключаются в повышении толщины

бронхиальных стенок, ширины стенок легочных сосудов и межальвеолярных перегородок, наиболее выраженные у взрослых животных. При гипербарической гипероксии имеет место значительное увеличение ширины межальвеолярных стенок у предпубертатных и 2-месячных крыс, ширины сосудистых стенок у 2-месячных и старых крыс, утолщения бронхиальных стенок, особенно выраженные у неполовозрелых животных. Гипо- и гипероксическое воздействие сопровождается повышением стабильности сурфактанта, что выражается в увеличении коэффициента стабильности легочных пузырьков у животных всех опытных групп, за исключением 2-месячных крыс, подвергнутых острой гипобарической гипоксии, которая приводит к снижению стабильности альвеолярного выстилающего комплекса.

Представленный в статье материал является результатом части экспериментальной работы, проводимой на протяжении 18 лет в рамках утвержденного на кафедре и в Университете научного направления «Метаболические функции легких и стресс-реактивность легких на разных этапах постнатального онтогенеза» (руководитель Нестеров Ю. В.)

Литература

1. *Автандилов Г.Г.* Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина, 2002.

2. *Воинов В.А.* Эфферентная терапия. Мембранный плазмоферез. М.: Новости, 2006.

3. *Ерохин В.В., Романова Л.К.* Сурфактантная система лёгких // В кн.: Клеточная биология лёгких в норме и при патологии. М.: Медицина, 2000.

4. *Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А.* Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Высш. школа, 1983.

5. *Кауфман О.Я., Орехов О.О., Гусев С.А.* Патология микроциркуляторного русла лёгких // В кн.: Клеточная биология лёгких в норме и при патологии. М.: Медицина, 2000.

6. *Киров М.Ю., Кузьков В.В., Недашковский В.В.* Острое повреждение лёгких при сепсисе: патогенез и интенсивная терапия. Архангельск: Северный ГМУ, 2004.

7. *Коледова В.В.* Липидный обмен и резистентность легких к эдемогенным воздействиям // В сб.: Тезисы докладов II Российского конгресса по патофизиологии. М.: РГМУ, 2000.

8. *Лазько А.Е., Асфандияров Р.И., Лазько М.В.* Преобразования морфофункциональной системы «альвеола-капилляр» в постнатальном онтогенезе человека // Морфология. 2001. Т. 120. № 4. С. 64–68.

9. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высш. школа, 1990.

10. *Левшанков А.И., Розенберг О.А.* Отечественные препараты лёгочного сурфактанта. Сурфактант-терапия респираторного дистресс-синдрома новорождённых и взрослых. СПб.: Ритм, 2001.

11. *Мотавкин П.А., Гельцер Б.И.* Клиническая и экспериментальная патофизиология легких. М.: Наука, 1998.

12. *Нестеров Ю.В.* Альвеолярный поверхностно-активный комплекс (сурфактант) как критерий оценки стресс-чувствительности легочной ткани // Естественные науки. 2007. № 2. С. 56–61.

13. *Прокофьев В.Н., Могильницкая Л.В., Моргулис Г.Л., Шерстнева И.Я.* Биохимический состав сурфактанта и свободнорадикальные процессы в нем при гипербарооксигенации и в постгипероксический период // Пат. физиол. 1995. № 3. С. 40–43.

14. *Саркисов Д.С., Петров Ю.Л.* Микроскопическая техника. М.: Медицина, 1996.

15. *Тодоров И.Н., Тодоров Г.И.* Стресс, старение и их биохимическая коррекция. М.: Наука, 2003.

16. *Abe S., Shiratori S., Takahashi H.* Respiratory tract diseases and pulmonary surfactant protein molecules // Nippon Naika Gakkai Zasshi. 2002. Vol. 20. P. 236–242.

17. *Baritussio A.* Lung surfactant, asthma and allergens: a story in evolution // Amer. J. Resp. Crit. Care Med. 2004. Vol. 169. № 5. P. 517–523.

18. *Boggaram V.* Regulation of surfactant protein gene expression by hyperoxia in the lung // Antioxid. Redox. Signal. 2004. Vol. 6. № 1. P. 185.

19. *Donn S.M., Dalton J.* Surfactant replacement therapy in the neonate: beyond respiratory distress syndrome // Respir. Care. 2009. Vol. 54. 1203–1208.

20. *Jain M., Sznajder J.I.* Effects of hypoxia on the alveolar epithelium // Proc. Amer. Thorac. Soc. 2005. Vol. 2. № 3. P. 202–205.

21. *Jobe A., Ikegami M.* Biology of surfactant // Clin. Perinatol. 2001. Vol. 28. № 3. P. 655–669.

Поступила в редакцию 24.06.2019
После доработки 28.06.2019
Принята к публикации 02.07.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 985–989

Y. V. Nesterov

AGE FEATURES OF THE REACTION OF THE LUNG TISSUE AND SURFACTANT TO HYPOBARIC HYPOXIA AND HYPERBARIC HYPEROXIA IN THE EXPERIMENT

Astrakhan State University, Russia, 20a Tatishchev str., Astrakhan 414056, e-mail: nest.jv@mail.ru

A comparative analysis of the morphometric changes in lung tissue was carried out with simultaneous evaluation of the stability of the surfactant in exogenous hypoxia and hyperbaric oxygenation in the experiment on white rats of different postnatal age (4 weeks, 2 months and 24 months). By the methods of light microscopy and system quantitative analysis morphometric parameters were studied, a general morphological picture of the lung tissue is described and evaluated of the stability of the alveolar lining complex by the method of Pattl. The studies have shown that a complex of structural changes is developing after hypoxic and hyperoxic effects: heterogeneity and increase in airiness of lung tissue, increase in the width of interalveolar septa, thickness of bronchial and vascular walls, the severity of which depends on the age. An increase in the stability of the surfactant in all experimental groups of animals was revealed, except for 2-month-old rats subjected to hypoxic action. Intact animals showed a regular increase of the values of morphometric indices with age.

***Key words**: morphometric indicators of lung tissue, surfactant, hypoxia, hyperoxia, age*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 615.322:57.085.23:612.67:599.323.4

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 990–995

Н. И. Чалисова[1, 2], Г. А. Рыжак[2], М. А. Зайцева[3], М. Л. Александрова[3], А. А. Краснова[3], В. В. Халаман[4], Л. С. Козина[2]

СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *FUCUS VESICULOSUS* НА КЛЕТОЧНУЮ ПРОЛИФЕРАЦИЮ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС

[1] Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6, e-mail: ni_chalisova@mail.ru; [2] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, e-mail: ibgu@medport.ru; [3] Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства, 192019, Санкт- Петербург, ул. Бехтерева, 1, e-mail: analekt@mail.ru; [4] Беломорская биологическая станция, Зоологический институт РАН, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 1, e-mail: vkhalaman@gmail.com

В органотипической культуре исследовали влияние водорастворимой фракции Ф-55 экстракта бурых водорослей *Fucus vesiculosus* на развитие органотипической культуры тканей различного генеза, происходящих из трех зародышевых листков, у молодых и старых крыс. Препарат Ф-55 оказывает стимулирующее влияние на процессы клеточной пролиферации в тканях экто-, энто- и мезодермального генеза (в коре головного мозга, миокарде, селезенке и печени) за счет регуляции процессов клеточной пролиферации и апоптоза. Выявленное усиление регенерационных процессов в эксплантатах как от молодых, так и от старых крыс под влиянием препарата Ф-55 в диапазоне сверхмалых концентраций 10–100 нг/мл может служить базой для создания новых лекарственных цитопротекторных веществ, позволяющих усиливать клеточную регенерацию в различных тканях при патологических процессах, в том числе ассоциированных с возрастом.

***Ключевые слова:** цитопротекторные препараты, водоросли Fucus vesiculosus, органотипическая культура тканей, старение*

Изучение механизмов, лежащих в основе регуляции важнейших гомеостатических функций организма, представляет собой одно из приоритетных направлений современной биологии и медицины. Поддержание биологической целостности организма на клеточном уровне регулируется сигналами, которые позволяют сохранять сложное равновесное состояние между двумя основными физиологическими процессами — пролиферацией и программированной клеточной гибелью (апоптозом) [2, 5, 6, 12]. Большое значение в поддержании гомеостатических функций организма имеют различные цитокины, поддерживающие структурный и функциональный гомеостаз клеточных популяций [4, 9, 10, 13]. Однако актуальной проблемой биологии и клинической медицины остается поиск веществ, способных оказывать цитопротекторное, и в том числе геропротекторное, действие и усиливать регенерационные процессы в различных тканях. В связи с этим продолжается поиск и создание лекарственных препаратов, оказывающих комплексное цитопротекторное действие в тканях молодых и старых организмов. В целях создания таких препаратов проводятся фармакологические исследования бурых водорослей, таких как *Fucus vesiculosus*. Имеются данные об антиоксидантных свойствах экстракта *Fucus vesiculosus* [11], что связано со структурным сходством входящего в его состав фукоксантина с β-каротином и витамином *A*, и этим в какой-то мере может быть обусловлено его цитопротекторное действие. Однако для разработки лекарственных средств на его основе и внедрения в медицинскую практику необходима первичная оценка на клеточном уровне биологической эффективности этих водорослей в тканях как молодых, так и старых организмов.

Метод органотипического культивирования тканей является наиболее адекватным и удобным методом для быстрой количественной оценки направленности влияния исследуемых биологически активных веществ [2, 12]. Этот метод имеет те преимущества, что при культивировании тканей отсутствуют нервные, гуморальные и другие влияния, имеющиеся в целостном организме. Ткань находится в стандартных, контролируемых условиях, причем возможно строгое дозирование вво-

димого в культуру ткани вещества. В образовании периферической зоны роста играют роль процессы клеточной пролиферации, миграции и адгезии. Последующая оценка зоны роста позволяет произвести быстрое скрининговое исследование биологически активных веществ, а также установить направленность их действия, стимулирующее или ингибирующее клеточную пролиферацию. Таким образом, изменение числа клеток в зоне роста по сравнению с контрольными образцами может служить критерием первичной интегральной оценки биологической активности веществ. Кроме того, преимуществом метода органотипического культивирования является то, что экономится количество экспериментальных животных, так как от одного животного можно получить большое количество эксплантатов, необходимое для статистической обработки данных [2, 6, 7]. Поэтому скрининговое исследование влияния фракций экстракта из бурых водорослей на различные ткани млекопитающих позволяет дать первичную оценку цитопротекторных свойств биологически активных веществ, содержащихся в этих водорослях.

Цель работы — исследование влияния водорастворимой фракции экстракта Ф-55 из бурых водорослей *Fucus vesiculosus* на развитие органотипической культуры тканей экто-, энто- и мезодермального генеза у молодых и старых крыс.

Материалы и методы

Для получения водорастворимого экстракта *Fucus vesiculosus* Ф-55 в качестве исходного сырья использовали водоросли *Fucus vesiculosus*, собранные на беломорской биостанции Картеш (район губы Чупа). Свежесобранные водоросли тщательно промывали морской водой, после чего замораживали при –20 °С и транспортировали в замороженном виде. Далее 1 кг замороженных водорослей заливали 4 л горячей воды (90 °С), выдерживали 5 мин и сливали раствор. Оставшиеся водоросли трижды промывали 4 л горячей воды (50 °С), после чего тщательно отжимали. К отжатым влажным водорослям прибавляли 2 л этанола 96 % и выдерживали при комнатной температуре 24 ч. Затем спиртово-водный экстракт сливали и фильтровали через грубый хлопчатобумажный фильтр. Отделенный раствор переносили в колбу для упаривания и отгоняли на роторном испарителе в вакууме 100 мм при температуре бани не выше 80 °С до получения остаточного объема жидкости не более 200 мл. Полученную густую интенсивно окрашенную жидкость сливали в виалу для лиофилизации и замораживали при –20 °С. Замороженную субстанцию помещали в сублимационную установку и лиофилизировали в вакууме 1 мБар в течение 48 ч с последующим просушиванием при 0,1 мБар в течение 6 ч. В результате получилось 14 г продукта (Ф-55) в виде коричневого порошка, который хранили в герметичной стеклянной виале при температуре –10 °С. Препарат Ф-55 полностью растворяется в воде с образованием светло-желтого раствора со слабой опалесценцией.

Органотипическое культивирование тканей проводили в стерильных условиях. Работа проведена на крысах из биоколлекции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России. В экспериментах использовано по 250–300 эксплантатов каждой ткани, а именно эктодермального генеза (кора головного мозга), мезодермального генеза (селезенка, миокард) и энтодермального генеза (печень), полученных в сериях опытов от 7 молодых (3-месячных) и 7 старых (24-месячных) крыс линии *Wistar*. После выделения эти ткани помещали в стерильные чашки Петри с физиологическим раствором и с помощью стерильных хирургических инструментов разделяли на эксплантаты величиной 1–2 мм^3. Затем эти эксплантаты переносили в чашки Петри с полилизиновым покрытием дна, к которому эксплантаты в результате адгезивных свойств прикреплялись в течение 15 мин. В каждую чашку Петри помещали 20–23 эксплантата, заливали питательной средой, состоящей из 35 % среды Игла, 35 % раствора Хенкса, 25 % фетальной телячьей сыворотки с добавлением глюкозы (0,6 %), гентамицина (100 ед/мл). Контрольные чашки Петри содержали только среду культуры клеток (3 мл), в экспериментальные чашки с 3 мл среды вводили препарат Ф-55 в концентрациях 10–100 нг/мл. Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37 °С и 5 % CO_2 и через 3 сут просматривали под фазово-контрастным микроскопом с микротеленасадкой (серия 10, МТН-13 «Альфа-Телеком»). Используя программу PhotoM 1.2, определяли индекс площади (ИП) в условных единицах как соотношение площади эксплантата (вместе с зоной пролиферации клеток) к площади центральной зоны. Значения ИП выражали в процентах, контрольные значения ИП принимали за 100 %. Достоверность

различий сравниваемых средних значений ИП контрольных и опытных образцов оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента с использованием компьютерных программ Excel и Statistica 5.0 (Statsoft). Так как анализировали соотношение всей площади (центральная зона+зона роста) к центральной зоне, в каждом эксплантате учитывали изменения, обусловленные не только пролиферацией, но и миграцией клеток.

В периферической зоне роста эксплантатов на 3-и сутки иммуноцитохимическим методом также определяли экспрессию белка *p53* и экспрессию маркера пролиферации — ядерного антигена пролиферирующих клеток (*PCNA*). Иммуногистохимическое исследование проводили иммунопероксидазным методом. В качестве первых антител были использованы моноклональные мышиные антитела, в качестве вторых антител применяли универсальный набор, содержащий биотинилированные антимышиные и антикроличьи иммуноглобулины. Маркировку вторых антител осуществляли комплексом авидина с биотинилированной пероксидазой (*ABC-kit*). На завершающем этапе эксперимента добавляли диаминобензидин (все реактивы от «Novocastra», Германия). После иммуноцитохимической окраски морфометрическое исследование проводили с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа «Nikon Eclipse E400», цифровой камеры «Nikon DXM1200» (Япония), персонального компьютера на базе Intel Pentium 4 и программного обеспечения Видеотест-Морфология 4.0. В каждом из 20—23 эксплантатов в чашке Петри анализировали как минимум 10 полей зрения при ув. 400. Определяли площадь экспрессии *p53* и *PCNA*, которая представляла собой отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения, выражаемое в процентах. Указанные параметры отражают интенсивность синтеза или накопления исследуемых маркеров. Результаты исследований обрабатывали с помощью компьютерных программ Excel и Statistica 5.0 (Statsoft). Для оценки межгрупповых различий (сравнения средних контрольных и экспериментальных значений) применяли *t*-критерий Стьюдента. Вероятность ошибки цифровых данных закладывали в пределах 5 %, что отвечает стандартам, принятым для медико-биологических исследований.

Результаты и обсуждение

В первые сутки культивирования происходило распластывание эксплантатов на коллагеновой подложке, выселение в зону роста пролиферирующих и мигрирующих специализированных клеток (миоцитов в ткани миокарда, лимфоцитов в ткани селезенки, нейроцитов и глиобластов в ткани коры головного мозга и гепатоцитов в ткани печени), а также фибробластов. Через 3 сут, если в эксперименте наблюдали стимуляцию развития зоны роста в результате клеточной пролиферации, ИП экспериментальных эксплантатов увеличивался по сравнению с ИП контрольных эксплантатов. Для выявления эффективных концентраций препарата Ф-55, то есть тех, при которых происходит максимальное увеличение ИП, его вводили в среду культуры клеток в концентрациях 10, 20, 50 и 100 нг/мл.

При культивировании тканей от молодых крыс получены следующие данные (*табл. 1*). В ткани мезодермального генеза — миокарде — выявлено статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов при концентрации Ф-55 10 нг/мл, когда ИП увеличивался на 50±5 % (n=20, p<0,05), по сравнению со значением ИП в контрольных образцах (n=19). Статистически

Таблица 1

Индекс площади эксплантатов миокарда, селезенки, коры головного мозга и печени у молодых и старых крыс в зависимости от концентрации препарата Ф-55, % по отношению к контрольным эксплантатам

Концентрация препарата Ф-55, нг/мл	Миокард		Селезенка		Кора головного мозга		Печень	
	молодые крысы	старые крысы	молодые крысы	старые крысы	молодые крысы	старые крысы	молодые крысы	старые крысы
10	50±5*	38±3*	–4±1	12±5	–6±1	3±1	5±2	–3±2
20	21±1*	10±5	22±3*	20±3*	9±2	–9±2	11±5	4±1
50	14±5	–11±3	7±5	–3±1	15±3	10±3	–4±2	–12±5
100	–12±3	–15±7	–2±1	–8	25±3*	21±1*	23±1*	23±2*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * p<0,05 по сравнению с индексом площади в контрольных эксплантатах.

достоверное увеличение зоны роста эксплантатов вызывала также концентрация Ф-55 20 нг/мл, когда ИП увеличивался на 20±1%. При культивировании другой ткани мезодермального генеза — селезенки — статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов выявлено при концентрации Ф-55 20 нг/мл, когда ИП увеличивался на 22±3% (n=21, p<0,05), по сравнению со значением ИП в контрольных образцах (n=20).

При культивировании ткани эктодермального генеза — коры головного мозга — статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов выявлено при концентрации препарата Ф-55 100 нг/мл, когда ИП увеличивался на 25±3% (n=20, p<0,05), по сравнению со значением ИП в контрольных образцах (n=22). При действии других концентраций ИП был на уровне контрольных значений.

При культивировании ткани энтодермального генеза — печени — статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов выявлено при концентрации Ф-55 100 нг/мл, когда ИП увеличивался на 23±1% (n=18, p<0,05), по сравнению с значением ИП в контрольных образцах (n=20). Другие концентрации не оказывали влияния на рост эксплантатов.

При культивировании тканей от старых крыс также выявлено статистически достоверное увеличение значений ИП по сравнению с контрольными эксплантатами. Однако это увеличение в тканях мезо- и эктодермального генеза было на 2–12% ниже по сравнению с ИП эксплантатов от молодых животных (см. табл. 1). Так, в ткани мезодермального генеза — миокарде — статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов при концентрации Ф-55 10 нг/мл увеличилось на 38±5% (n=23, p<0,05) по сравнению со значением ИП в контрольных образцах (n=21). При культивировании селезенки статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов наблюдали при концентрации Ф-55 20 нг/мл, когда ИП увеличивался на 20±3% (n=22, p<0,05), по сравнению с значением ИП в контрольных образцах (n=20). Также происходило увеличение ИП при культивировании ткани коры головного мозга: статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов найдено при концентрации препарата Ф-55 100 нг/мл, когда ИП увеличивался на 21±1% (n=21, p<0,05), по сравнению со значением ИП контрольных эксплантатов (n=23). При культивировании ткани энтодермального генеза — печени — статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов, по сравнению с контрольными эксплантатами, было таким же, как в эсплантатах от молодых крыс, когда ИП увеличивался на 23±2% (n=19, p<0,05), по сравнению со значением ИП в контрольных образцах (n=22). Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что наиболее эффективными концентрациями экстракта Ф-55, стимулирующими зону роста исследуемых эксплантантов, были в миокарде — 10 нг/мл, в селезенке — 20 нг/мл, а в коре головного мозга и печени — 100 нг/мл.

При иммуноцитохимическом исследовании эксплантатов миокарда молодых крыс выявлено, что при воздействии эффективной концентрации препарата Ф-55 (10 нг/мл) происходило статистически достоверное увеличение площади экспрессии пролиферотропного маркера *PCNA* на 29% по сравнению с контрольными эксплантатами.

Наряду с этим, наблюдали снижение экспрессии белка *p53* на 30% по сравнению с контрольными эксплантатами (*табл. 2*). Аналогичное явление отмечали при культивировании миокарда в эксплантатах и от старых крыс, когда площадь экспрессии *PCNA* увеличивалась на 20%, а площадь экспрессии *p53* снижалась на 22% по сравнению с контрольными эксплантатами.

При культивировании мезодермальной ткани селезенки молодых и старых крыс в присут-

Таблица 2

Площадь экспрессии *p53* и маркера клеточной пролиферации *PCNA* при действии эффективных концентраций препарата Ф-55 в эксплантатах миокарда, селезенки, коры головного мозга и печени у молодых и старых крыс, % по отношению к контрольным эксплантатам

Параметр	Миокард		Селезенка		Кора головного мозга		Печень	
	молодые крысы	старые крысы	молодые крысы	старые крысы	молодые крысы	старые крысы	молодые крысы	старые крысы
Площадь экспрессии *PCNA*	+29±5*	+20±2*	+34±5*	+23±3*	+27±5*	+19±2*	+31±5*	+20±1*
Площадь экспрессии *p53*	–30±5*	–22±5*	–25±5*	–24±5*	–25±3*	–21±5*	–28±2*	–20±5*

ствии эффективной концентрации препарата Ф-55 (20 нг/мл) также наблюдали статистически достоверное увеличение площади экспрессии *PCNA* (на 34 и 23 % соответственно по сравнению с контрольными эксплантатами) и уменьшение площади экспрессии *p53* на 25 и 24 % соответственно. Та же тенденция действия эффективной концентрации препарата Ф-55 (100 нг/мл) выявлена и при иммуноцитохимическом исследовании ткани эктодермального генеза (кора головного мозга) в эксплантатах как от молодых, так и от старых крыс: площадь экспрессии *PCNA* увеличивалась на 27 и 19 % соответственно, а площадь экспрессии *p53* уменьшалась на 25 и 21 % по сравнению с контрольными эксплантатами. В ткани энтодермального генеза (печень) при действии эффективной концентрации препарата Ф-55 (100 нг/мл) в эксплантатах как от молодых, так и от старых крыс площадь экспрессии *PCNA* увеличивалась на 31 и 20 % соответственно, а площадь экспрессии *p53* уменьшалась на 28 и 20 % по сравнению с контрольными эксплантатами (см. табл. 2).

Заключение

Препарат Ф-55, являющийся водорастворимой фракцией экстракта бурых водорослей *Fucus vesiculosus*, в сверхмалых концентрациях (10—100 нг/мл) оказывает стимулирующее влияние на процессы клеточной пролиферации в тканях мезо-, экто- и энтодермального генеза — в миокарде и селезенке, коре головного мозга, печени. Это совпадает с данными о различном действии биологически активных веществ (генетически кодируемых аминокислот, пептидов) на клеточную пролиферацию в тканях различного генеза [6, 7, 9—12]. Наибольшую стимуляцию клеточной пролиферации наблюдали в тканях мезодермального генеза как у молодых (увеличение индекса площади на 22—50 % по сравнению с контрольными образцами), так и у старых крыс (увеличение индекса площади на 20—38 % по сравнению с контрольными образцами).

Усиление регенерационных процессов в тканях молодых и старых животных происходит за счет регулирования основного клеточного процесса — увеличения клеточной пролиферации (увеличение площади экспрессии маркера пролиферации *PCNA* и снижение уровня полифункционального белка *p53*, одной из важных функций которого является регуляция апоптоза) [14, 15]. В наших предыдущих исследованиях показано, что процессы усиления клеточной пролиферации под влиянием различных биологически активных соединений в органотипической культуре различных тканей всегда сопровождаются уменьшением экспрессии белка *p53* [2, 5—7]. Это дает основание полагать, что соотношение двух основных процессов — пролиферации и апоптоза — приводит к сбалансированной направленности клеточного роста (его усилению или угнетению).

Необходимо отметить, что в последние десятилетия появился ряд работ о чувствительности человека и животных к сверхмалым концентрациям биологически активных веществ. Эффективность сверхмалых доз биологически активных веществ продемонстрирована в опытах на всевозможных биологических моделях (изолированные ферменты, клетки, ткани, лабораторные животные) и в клинических исследованиях [3, 7, 8]. При этом показано, что эффективность сверхмалых доз, например доксорубицина, сравнима с эффективностью стандартной дозы, а токсичность резко снижается [1]. Выявленное усиление регенерационных процессов в тканях молодых и старых крыс под влиянием водорастворимой фракции экстракта бурых водорослей *Fucus vesiculosus* в диапазоне таких сверхмалых концентраций, как 10—100 нг/мл, может служить базой для создания новых лекарственных веществ с цитопротекторными свойствами, но не оказывающих при этом побочного действия.

Демографические изменения в современном мире, связанные с постарением населения практически во всех странах, делают особенно актуальным поиск новых эффективных методов и средств для усиления регенерационных процессов в различных тканях при старении организма. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что препарат Ф-55 может служить базой для создания новых цитопротекторных препаратов, усиливающих процессы регенерации. В данной работе показано, что в эксплантатах от старых крыс, по сравнению с эксплантатами от молодых крыс, при введении в среду культуры клеток препарата Ф-55 наблюдали некоторое уменьшение величины индекса площади, что обусловлено снижением интенсивности репаративных процессов при старении. Поэтому на основе препарата Ф-55 возможна разработка новых средств, способствующих коррекции возрастных изменений в различных тканях организма. Это позволяет продолжить исследования препарата Ф-55 для дальнейшего получения лекарственных средств, практически

не оказывающих побочного действия, но позволяющих усиливать регенерационные процессы в различных тканях при патологических изменениях, в том числе ассоциированных с возрастом.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Биохтарова Н.И., Фомина Н.Н., Рыкова В.А., и др.* Противоопухолевая эффективность ультранизких доз доксорубицина в экспериментальных условиях // Бюл. экспер. биол. мед. 2003. Т. 135. № 1. С. 48–49.

2. *Закуцкий А.Н., Чалисова Н.И., Рыжак Г.А. и др.* Тканеспецифическое влияние синтетических биорегуляторных пептидов в органотипической культуре тканей молодых и старых крыс // Успехи геронтол. 2006. Т. 19. № 1. С. 93–96.

3. *Терехова С.Ф., Греченко Т.Н.* Регуляция функционального состояния нейрона сверхмалыми дозами различных биологически активных веществ // Радиац. биол. Радиоэкология. 2003. Т. 43. № 3. С. 315–319.

4. *Трофимова С.В., Линькова Н.С., Клименко А.А., и др.* Пинеамин повышает синтез мелатонина в эпифизе у лиц пожилого возраста // Успехи геронтол. 2017. Т. 30. № 3. С. 422–426.

5. *Хавинсон В.Х., Севостьянова Н.Н., Дурнова А.О. и др.* Тетрапептид стимулирует функциональную активность клеток поджелудочной железы при старении // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 4. С. 680–684.

6. *Чалисова Н.И., Князькин И.В., Кветной И.М.* Нейроэндокринные механизмы действия пептидов и аминокислот в тканевых культурах. СПб.: ДЕАН, 2005.

7. *Чалисова Н.И., Пеннияйнен В.А., Ноздрачёв А.Д.* Стимулирующее действие малых доз ингибирующих веществ в органотипической культуре нервной и лимфоидной ткани // ДАН. 2002. Т. 383. № 2. С. 1–4.

8. *Baerwolff M., Bie P.* Effects of subpicomolar changes in vasopressin on urinary concentration // Amer. J. Physiol. 1988. Vol. 255. Pt. 2. P. R940–R945.

9. *Chen N., Li Q., Liu J., Jia S.* Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review // Diabetes. Metab. Res. Rev. 2016. Vol. 32. № 1. P. 51–59.

10. *Dreos R., Ambrosini G., Cavin P. et al.* EPD and EPDnew, high-quality promoter resources in the next generation sequencing era // Nucleic acids res. 2013. Vol. 41. P. 157–164.

11. *Ferreres F., Lopes G., Gil-Izquierdo A. et al.* Phlorotannin extracts from fucales characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties // Mar. Drugs. 2012. Vol. 10. № 12. P. 2766–2781.

12. *Khavinson V., Linkova N., Kukanova E. et al.* Neuroprotective Effect of EDR Peptide in Mouse Model of Huntington's Disease // J. Neurol. Neurosci. 2017. Vol.8. № 1. P. 1–11.

13. *Lickert H.* Betatrophin fuels β cell proliferation: first step toward regenerative therapy? // Cell Metab. 2013. Vol. 18. № 1. P. 5–6.

14. *Toledo F.G., Wahl M.* Regulating the p53.pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas // Nat. Rev. Cancer. 2006. Vol. 6. P. 909–923.

15. *Aubrey B.G., Kelly G.L., Janic A. et al.* How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? // Cell Death Differ. 2018. Vol. 25. P. 104–113.

Поступила в редакцию 11.02.2019
После доработки 16.06.2019
Принята к публикации 19.06.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 990–995

N. I. Chalisova [1, 2], G. A. Rizhak [2], M. A. Zayitseva [3], M. L. Alexandrova [3], A. A. Krasnova [3], V. V. Khalaman [4], L. S. Kozina [2]

STIMULATING EFFECT OF WATER-SOLUBLE FRACTION FROM BROWN ALGAE *FUCUS VESICULOSUS* EXTRACT ON CELL PROLIFERATION IN TISSUE CULTURE OF YOUNG AND OLD RATS

[1] I. P. Pavlov Institute of Physiology RAS, 6 nab. Makarova, St. Petersburg 199034, e-mail: ni_chalisova@mail.ru; [2] Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3 pr. Dinamo, St. Petersburg 197110, e-mail: ibgu@medport.ru; [3] Institute of Toxicology of Federal Medical-Biological Agency, 1 Bekhtereva str., St. Petersburg 192019, e-mail: analekt@mail.ru; [4] White Sea Biological Station, Zoological Institute of RAS, 1 Universitetskaya nab., St. Petersburg 199034, e-mail: vkhalaman@gmail.com

The influence of water-soluble fraction F-55 of brown algae extract Fucus vesiculosus on the development of organotypic tissue culture of different genesis, originating from three germ leaves in young and old rats was studied. The preparation F-55 has a stimulating effect on the processes of cell proliferation in the tissues of ecto-, ento- and mesodermal genesis (cerebral cortex, myocardium, spleen and liver), by regulating the processes of cell proliferation and apoptosis. The revealed strengthening of regeneration processes in explants from both young and old rats under the influence of F-55 preparation in the range of ultra-low concentrations of 10–100 ng/ml can serve as a basis for the creation of new medicinal cytoprotective substances that allow to enhance cell regeneration in various tissues in pathological conditions, including those associated with age.

Key words: *cytoprotective preparations, algae Fucus vesiculosus, organotypic tissue culture, aging*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 616.89.43+616.89-008.45/.48-08-036.838:004.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 996–1002

И. В. Авдеева [1], К. И. Прощаев [2], А. Н. Ильницкий [2], Е. В. Ткаченко [3], И. С. Носкова [2]

ОПТИМИЗАЦИЯ КОГНИТИВНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПОЖИЛОГО ПАЦИЕНТА С ДВИГАТЕЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ НА ОСНОВЕ СОВРЕМЕННЫХ ЦИФРОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 308015, Белгород, ул. Победы, 85, e-mail: irinaavdeeva91@mail.ru; [2] Академия постдипломного образования, 125371, Москва, Волоколамское шоссе, 91, e-mail: a-ilnitski@yandex.ru; [3] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, e-mail: otd-13@niioncologii.ru

Проблема когнитивной дисфункции в современной геронтологической помощи выходит на лидирующие позиции, затрудняя лечение и реабилитацию сопутствующих двигательных нарушений. Актуальным направлением в последние годы становится поиск и разработка моделей когнитивной реабилитации пациентов пожилого возраста на базе цифровых технологий с возможностью переноса эффекта на двигательную и психическую сферы. В литературных источниках последних 5–7 лет описаны десятки методик когнитивной реабилитации, в том числе и на основе компьютерных игр, в которых демонстрируется значимость данных методик не только в улучшении когнитивных способностей пациентов, но и в сохранении социальной адаптации и повседневного функционирования. При этом ничтожно малое внимание уделено проблеме применения цифровых технологий в реабилитации когнитивных нарушений у пациентов с двигательными нарушениями и возможному переносу эффекта между сферами. В настоящем исследовании показано применение алгоритма действия с участием электронных устройств как когнитивной реабилитации с компенсаторным механизмом у коморбидных пациентов с двигательными и умеренными когнитивными нарушениями.

Ключевые слова: когнитивные нарушения, двигательные нарушения, пожилой возраст, когнитивная реабилитация, алгоритм действий

Снижение способности к передвижению в результате двигательных нарушений и когнитивные расстройства представляются основными причинами ухудшения функциональной способности у людей пожилого возраста [11]. Двигательные патологии, такие как постуральная неустойчивость и нарушение ходьбы, выявляются в пожилом возрасте достаточно часто [5]. Только нарушение ходьбы, согласно литературным данным, встречается более чем в 15 % случаев у людей старше 60 лет, в 35 % — старше 70 лет, в 80 % — старше 85 лет [17].

Причины двигательных расстройств в пожилом возрасте весьма разнообразны: нарушение сенсорной афферентации, пирамидная, мозжечковая и экстрапирамидная недостаточность сосудистого или дегенеративного характера, боль в нижней части спины, ассоциированная с гетерогенной группой заболеваний, артроз и артрит с болевыми синдромами различной степени выраженности, поражение периферических нервов и психогенные расстройства [6, 7, 10, 13, 14]. Однако в современных схемах лечения и реабилитации пациентов с двигательными нарушениями не уделяется должного внимания сопутствующим когнитивным расстройствам, которые нередко остаются «в тени» более выраженного двигательного дефекта [8, 12, 20, 22].

Решение проблемы было найдено в когнитивной реабилитации, способствующей улучшению нейрокогнитивного профиля пожилых пациентов и долговременному повышению качества жизни [3, 15]. В данном случае особенно интересной становится оптимизация программ когнитивной реабилитации пожилых пациентов с двигательными нарушениями путем разработки и внедрения доступных цифровых технологий, направленных на повышение комплаентности восстановления с потенцированием влияния как на умственную, так и двигательную сферы [9].

Цель исследования — оптимизировать когнитивную реабилитацию у пациентов гериатрического профиля с двигательными и ранними умственными нарушениями с применением современных цифровых технологий.

Материалы и методы

Исследование выполнено в амбулаторных условиях на базе Городской больницы № 2 Белгорода в Поликлинике № 7. Все пациенты под-

писали добровольное информированное согласие. В исследование вошли 203 пациента 45–75 лет (117 женщин, 86 мужчин) с двигательными нарушениями (устойчивости и/или ходьбы) и жалобами когнитивного характера на снижение памяти, нарушение речи, пространственных отношений, счета, выполнения действий и другое, предъявляемыми самим пациентом или близким родственником. Изначально пациентов включали в исследование с умеренными когнитивными нарушениями, установленными нами при первичном обследовании при помощи краткой шкалы исследования психического статуса (КШОПС) [16]. Также на первичном обследовании устанавливали степень двигательных и аффективных нарушений при помощи комплексной гериатрической оценки, проводимой экспресс-методом с применением шкалы двигательной активности и устойчивости Тинетти [21], госпитальной шкалы оценки тревоги и депрессии (англ. Hospital anxiety and depression scale — HADS) [24].

Критерии включения: возраст не менее 45 и не более 75 лет; наличие двигательных нарушений (устойчивости и/или ходьбы); умеренные когнитивные нарушения; диапазон баллов 27–24 по КШОПС; отсутствие установленной деменции. Критерии исключения: перенесенное ОНМК или черепно-мозговая травма, сопряженные с умеренным или выраженным моно- или гемипарезом; перманентная форма фибрилляции предсердий; прием антикоагулянтов; сахарный диабет 1-го или 2-го типа; онкозаболевание в стадии симптоматической терапии; ИБС со стенокардией напряжения III–IV ФК; ХСН IIБ–III стадии; гонартроз и/или коксартроз III–IV степени; язвенная болезнь желудка и/или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения или неустойчивой ремиссии; бронхиальная астма; установленное психическое заболевание.

Пациенты, включенные в исследование, были распределены на две группы — основную и контрольную с рандомизацией на подгруппы по возрастным характеристикам — средний (45–59 лет) и пожилой (60–74 года) возраст. В контрольную группу включены пациенты 45–59 лет (51 человек, средний возраст — 52,17±0,48 года) и пациенты 60–74 лет (51 человек, средний возраст — 66,67±0,94 года). В основную группу включены пациенты среднего возраста 45–59 лет (50 человек, средний возраст — 52,79±1,01 года) и пожилые пациенты 60–74 лет (51 человек, средний возраст — 67,19±0,72 года). Гендерно-демографические особенности, а также результаты первичного обследования пациентов обеих групп представлены в *табл. 1*.

Применяемая у пациентов терапия состояла из нескольких блоков. Основной блок в обеих группах включал комплексную медикаментозную терапию в сочетании с индивидуальным курсом физической активности. Медикаментозная терапия в обеих группах включала комбинацию нейротропных препаратов [этилметилгидроксипиридинасукцинат 375 мг/сут (ООО «НПК «ФАРМАСОФТ», Россия), гинкго двулопастного листьев экстракт 240 мг/сут (ООО «КРКА-РУС», Россия), цитиколин 500 мг/сут (ЗАО «ФармФирма «Сотекс», Россия)], а также гипотензивные, гиполипидемические препараты, антиагреганты.

Программа двигательной активности была составлена в соответствии с Глобальными рекомендациями по физической активности (WHO Global Recommendation son Physical Activity for Health) и Национальным руководством по гериатрии РФ, куда вошли упражнения аэробного и анаэробного характера, в том числе упражнения на баланс для пациентов пожилого возраста [2, 23]. Уровни физической активности рандомизированы по возрастным характеристикам пациентов с постепенным повышением длительности выполняемых упражнений в течение всего периода наблюдения: на старте программы — 150 мин/нед аэробные упражнения и 30 мин/нед — анаэробные упражнения под контролем инструктора по лечебной физкультуре до 210 мин/нед к 7 мес, далее аэробные упражнения и 60 мин/нед — анаэробные.

Курс регулярной физической активности был представлен следующими видами упражнений: аэробные в виде ходьбы по ровной местности с сохранением постоянного темпа и длины шага для формирования двигательного стереотипа. Анаэробные — гомологичные, гомолатеральные и гетеролатеральные движения конечностями с гантелями в виде гимнастики в зале под руководством инструктора по лечебной гимнастике, которая способствует определению сагиттальной симметрии и вертикальной оси тела, различению верхней и нижней части и правой и левой половины тела.

Отличительной особенностью между группами было применение в основной группе метода составления алгоритма действий 24/7 как когнитивной реабилитации. Последняя представлена составлением

Таблица 1

Гендерно-демографические особенности и результаты первичного обследования пациентов обеих групп

Показатель		Контрольная группа		Основная группа	
		пожилой возраст, *n*=51	средний возраст, *n*=51	пожилой возраст, *n*=51	средний возраст, *n*=50
Пол, женщины/мужчины, абс. число (%)		29/22 (56,86±6,94/43,14±6,94)	30/21 (58,82±6,89/41,18±6,89)	27/24 (52,94±6,99/47,06±6,99)	31/19 (62±6,86/38±6,86)
Средний гендерный возраст (женщины/мужчины), лет		67,61±0,92/65,72±0,95	52,10±0,67/52,28±0,70	67,91±0,85/66,46±0,74	51,78±0,79/53,80±0,90
Наличие супруга/супруги, абс. число (%)		43 (84,31±5,09)	49 (96,08±2,72)	45 (88,24±4,51)	46 (92,00±3,84)
Занятия физической активностью, абс. число (%)	регулярно	17 (33,33±6,60)	11 (21,57±5,76)	21 (41,18±6,89)	14 (28,00±6,35)
	нерегулярно	8 (15,69±5,09)	24 (47,06±6,99)	13 (25,49±6,10)	18 (36,00±6,79)
	отказ от занятий	26 (50,98±7,00)	16 (31,37±6,50)	17 (33,33±6,60)	18 (36,00±6,79)
Краткая шкала исследования психического статуса, средний балл		26,25±0,12	26,37±0,10	26,25±0,13	26,40±0,11
Шкала двигательной активности и устойчивости Тинетти, средний балл	суммарный балл	31,16±0,37	35,59±0,19	30,90±0,39	35,50±0,18
	«устойчивость»	18,31±0,26	21,24±0,10	18,04±0,27	21,24±0,09
	«походка»	12,85±0,12	14,35±0,10	12,86±0,13	14,26±0,10
Госпитальная шкала оценки тревоги и депрессии, средний балл	суммарный балл	6,82±0,19	6,88±0,21	6,71±0,20	6,40±0,24
	тревога	3,96±0,23	3,25±0,23	3,22±0,23	3,82±0,25
	депрессия	2,86±0,24	3,63±0,23	3,49±0,20	2,58±0,20

плана или алгоритма действий с применением цифровых технологий (например, персонального компьютера или электронного планшета) с обязательным включением следующих позиций: ночного сна не менее 6—8 ч, времени приема пищи, санитарных мер, лекарственных препаратов, комплекса физической активности, хобби, дополнительной когнитивной «гимнастики» в виде разгадывания кроссвордов, чтения текста на скорость и т. д. Пациент получал бланк алгоритма одним из трех способов: 1) на приеме у врача на свое электронное устройство или путем непосредственной разработки его в программе на планшете; 2) удаленно по почте после приема; 3) в виде печатного бланка в случае отсутствия электронных средств на приеме. План действий также можно было отправить на смартфон, электронные наручные часы с поддержкой пакета программ Microsoft Office.

Алгоритм действий составляли и отображали на отдельном бланке благодаря авторской электронной программе «Дневник пациента с когнитивными нарушениями» для персонального компьютера (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614243), куда вносили конкретные позиции действий пациента. Когнитивную реабилитацию пациент проводил ежедневно. Она рассчитана как элемент-подсказка с компенсаторным механизмом для последовательного выполнения всех действий в обход существующего когнитивного дефекта. Оценку эффективности когнитивной реабилитации проводили в 3, 6 и 12 мес по шкалам первичного обследования при повторных консультациях в первой половине рабочего дня. Исследование одобрено этическим комитетом на заседании кафедры факультетской терапии Медицинского института ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (протокол № 3а от 21.11.2016 г.).

Материалы исследования подвергали статистической обработке с помощью программы IBM SPSS Statistics v. 23 (IBM Corporation). Анализ достоверности полученных результатов проводили при помощи критерия Стьюдента. Результаты исследования считали достоверными при $p<0,05$ (при 5 % уровне значимости).

Результаты и обсуждение

При оценке результатов исследования когнитивной сферы у пациентов пожилого и среднего возраста контрольной группы на сроке исследования в 12 мес отмечали улучшение когнитивных способностей по КШОПС — 26,39±0,13 и 26,57±0,14 соответственно (при $p<0,05$). В основной группе у пожилых пациентов показано улучшение когнитивных способностей уже в 6 мес, с уменьшение когнитивного дефицита к 12 мес — 26,63±0,13 и 26,84±0,16 соответственно в сравнении с началом программы 26,25±0,13 ($p<0,05$). У пациентов среднего возраста основной группы улучшения достоверны к 12 мес (26,96±0,16) исследования в сравнении с началом программы — 26,40±0,11 ($p<0,05$). Результаты оценки когнитивных способностей у пациентов по КШОПС представлены в *табл. 2*.

При оценке двигательных способностей по шкале двигательной активности и устойчивости Тинетти пациенты основной группы на фоне когнитивной реабилитации демонстрировали более высокие результаты, нежели пациенты контрольной группы. При этом установлено, что в контрольной группе у пациентов пожилого возраста при сроке программы в 3 мес (31,41±0,37), 6 мес (31,88±0,37) и 12 мес (32,39±0,39) также наблюдали достоверное улучшение двигательной активности в сравнении с началом программы — 31,16±0,37 ($p<0,001$). Отмечено достоверное снижение нарушений и у пациентов среднего возраста в контрольной группе в 3 мес (35,76±0,20), 6 мес (36,02±0,24) и 12 мес (36,35±0,26) по сравнению с началом программы — 35,59±0,19 ($p<0,001$).

В основной группе у пациентов пожилого возраста отмечали достоверное снижение нарушений в двигательной сфере в 3 мес (31,45±0,41), 6 мес (32,31±0,41) и 12 мес (33,84±0,44) в сравнении с началом программы — 30,90±0,39 ($p<0,001$). У пациентов среднего возраста также показано улучшение на сроке 3 мес (36,06±0,25), 6 мес (36,56±0,26) и 12 мес (37,28±0,27) в сравнении с началом — 35,50±0,18 ($p<0,001$). Динамика показателей двигательной способности пациентов по шкале двигательной активности и устойчивости Тинетти представлена в *табл. 3*.

Таблица 2

Результаты когнитивных способностей пациентов по краткой шкале оценки психического статуса (*M±m*), баллы

Группа		Срок когнитивной реабилитации			
		начало	3 мес	6 мес	12 мес
Контрольная	пожилой возраст	26,25±0,12	26,37±0,14	26,43±0,13	26,39±0,13*
	средний возраст	26,37±0,10	26,41±0,10	26,53±0,12	26,57±0,14*
Основная	пожилой возраст	26,25±0,13	26,41±0,12	26,63±0,13*	26,84±0,16*,**
	средний возраст	26,40±0,11	26,52±0,11	26,70±0,12	26,96±0,16*

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: * $p<0,05$ по сравнению с началом когнитивной реабилитации в данной группе пациентов; ** $p<0,05$ по сравнению с контрольной группой в данной возрастной группе при одинаковом сроке когнитивной реабилитации.

Таблица 3

Показатели у пациентов обеих групп по шкале двигательной активности и устойчивости Тинетти (*M±m*), баллы

Группа		Срок когнитивной реабилитации			
		начало	3 мес	6 мес	12 мес
Контрольная	пожилой возраст	31,16±0,37	31,41±0,37*	31,88±0,37*	32,39±0,39*
	средний возраст	35,59±0,19	35,76±0,20*	36,02±0,24*	36,35±0,26*
Основная	пожилой возраст	30,90±0,39	31,45±0,41*	32,31±0,41*	33,84±0,44*,**
	средний возраст	35,50±0,18	36,06±0,25*	36,56±0,26*	37,28±0,27*,**

При этом несомненной является и связь тревожно-депрессивных расстройств в пожилом возрасте с когнитивными и двигательными нарушениями: перепады настроения в подавляющем большинстве случаев сопровождаются нарушением памяти, трудностью концентрации и внимания, снижением скорости протекания когнитивных процессов, праксиса [4]. Так, в ходе исследования нами установлено, что в контрольной группе на сроке 12 мес у пациентов пожилого возраста (6,18±0,22) достоверно снижался уровень тревоги и депрессии по госпитальной шкале оценки тревоги и депрессии в сравнении с началом программы — 6,82±0,19 ($p<0,05$). Пациенты среднего возраста также демонстрировали снижение уровня аффективных нарушений, но уже на сроке 6 мес (6,20±0,25) с нарастанием улучшения к 12 мес (6,14±0,21) в сравнении с началом программы — 6,88±0,21 ($p<0,05$).

В основной группе у пациентов пожилого и среднего возраста достоверное снижение уровня тревоги и депрессии показано с 6 мес (6,00±0,22 и 5,62±0,27 соответственно) с прогрессированием к 12 мес (5,84±0,19 и 5,18±0,25) в сравнении с началом — 6,71±0,20 и 6,40±0,24 ($p<0,05$). Уровень тревоги и депрессии у пациентов по госпитальной шкале оценки тревоги и депрессии представлен в *табл. 4*.

У пациентов среднего возраста в основной и контрольной группах достоверные различия показателей ($p<0,05$) наблюдали в 12 мес (6,14±0,21 и 5,18±0,25 соответственно).

Целенаправленное применение когнитивной реабилитации для стимулирования познавательных функций является одним из методов повышения качества жизни человека с интеллектуально-мнестическими нарушениями [1]. При этом особое место в последнее время в когнитивной реабилитации уделяется именно цифровым технологиям. Так, в недавно опубликованных результатах многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования FINGER, где принимали участие 1 260 пациентов 60–77 лет, сравнивали эффективность комплексной программы восстановления когнитивных функций (регулярная физическая активность и компьютерная когнитивная реабилитация) против рекомендаций по поддержанию регулярной физической активности, здорового образа жизни. При повторном нейропсихологическом тестировании через 2 года свою эффективность доказали именно комбинированные методики: когнитивная реабилитация с применением цифровых технологий и регулярная физическая активность [18].

В отношении пациентов пожилого возраста с умеренными когнитивными нарушениями и снижением функциональной активности в другом исследовании также установлена прочная корреляция улучшения когнитивных и двигательных способностей и когнитивной реабилитации с применением цифровых технологий, дополненной физической активностью [19].

По результатам нашего исследования, длительная направленная когнитивная реабилитация привела к значимому улучшению в двигательной, интеллектуально-мнестической, а также в психической сферах пациентов. Доказана эффективность цифровых технологий в основной группе: пациенты демонстрировали ранний ответ на проводимую программу и более высокие баллы по диагностическим шкалам. При оценке динамики когнитивных способностей по КШОПС показано, что на сроке 12 мес у пациентов пожилого возраста основной группы средний балл составил 26,84±0,16, в контрольной группе — 26,39±0,13.

Таблица 4

Уровень тревоги и депрессии по госпитальной шкале оценки тревоги и депрессии у пациентов обеих групп (*M±m*), баллы

Группа		Срок когнитивной реабилитации			
		начало	3 мес	6 мес	12 мес
Контрольная	пожилой возраст	6,82±0,19	6,75±0,21	6,43±0,21	6,18±0,22*
	средний возраст	6,88±0,21	6,61±0,24	6,20±0,25*	6,14±0,21*
Основная	пожилой возраст	6,71±0,20	6,45±0,21	6,00±0,22*	5,84±0,19*
	средний возраст	6,40±0,24	6,28±0,24	5,62±0,27*	5,18±0,25*,**

Различия показателей статистически значимы ($p<0,05$).

Наглядна динамика и двигательной активности: в 12 мес у пожилых пациентов основной группы средний балл по шкале двигательной активности и устойчивости Тинетти составил 33,84±0,44, в контрольной группе — 32,39±0,39, различия статистически значимы ($p=0,015$). У пациентов среднего возраста в обеих группах достоверные различия показателей ($p<0,001$) также наблюдали на сроке 12 мес (37,28±0,27 и 36,35±0,26 соответственно).

Заключение

Включение когнитивной реабилитации на базе цифровых технологий в схему реабилитации двигательных нарушений у пациентов пожилого и среднего возраста достаточно обоснованно. Динамика результатов двигательной активности, сопряженная с улучшением когнитивных способностей, а также уменьшением аффективных проявлений, свидетельствует об общности механизмов их патогенеза и возможности единой реабилитации имеющихся нарушений. Учитывая результаты исследования, разработка и внедрение электронных программ для оптимизации когнитивной реабилитации весьма актуальна и может в дальнейшем составить весомое звено в схемах лечения коморбидных пациентов.

Исследование выполнено в рамках финансирования основной научной деятельности учреждений.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Величковский Б.Б. Возможности когнитивной тренировки как метода коррекции возрастных нарушений когнитивного контроля // Экспер. психол. 2009. Т. 2. № 3. С. 78–91.

2. Гериатрия: Национальное рук. / Под ред. О.Н. Ткачевой и др. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018.

3. Григорьева В.Н. Когнитивная реабилитация — новое направление медицинской помощи больным с очаговыми поражениями головного мозга // Соврем. технол. в мед. 2010. № 2. С. 95–99.

4. Гусев Е.И., Боголепова А.Н. Депрессивные расстройства у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями (2-е. изд.). М.: МЕДпресс-информ, 2017.

5. Зитева О.О., Повереннова И.Е. Постуральные нарушения у людей пожилого возраста по данным компьютерной стабилометрии // Саратовский науч.-мед. журн. 2013. Т. 9. № 2. С. 291–294.

6. Кадыков А.С., Шахпаронова Н.В. Ранняя реабилитация больных, перенесших инсульт. Роль медикаментозной терапии // Нервные бол. 2014. № 1. С. 22–25.

7. Парфенов В.А. Вопросы оптимизации ведения пациентов с неспецифической болью в нижней части спины в амбулаторной практике // Мед. совет. 2012. № 4. С. 66–70.

8. Прокопенко С.В., Можейко Е.Ю., Корягина Т.Д. Возможности когнитивного тренинга с использованием специализированных компьютерных программ у больных, перенесших инсульт // Неврол. журн. 2014. № 1. С. 20–24.

9. Прокопенко С.В., Дядюк Т.В., Можейко Е.Ю. и др. Использование компьютерных стимулирующих программ у пациентов с постинсультными когнитивными нарушениями // Неврол. нейропсихиат. психосом. 2017. Т. 9. № 3. С. 48–53.

10. Стрельникова А.В., Михайлов В.П., Шелякина О.В. и др. Постуральный баланс после декомпрессивно-стабилизирующих операций у пациентов с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями поясничного отдела позвоночника // Хир. позвоночника. 2015. Т. 12. № 4. С. 63–69.

11. Шавловская О.А. Нарушение согласованности когнитивно-моторной интеграции в пожилом возрасте // Успехи геронтол. 2017. Т. 30. № 2. С. 223–230.

12. Airaksinen O., Brox J.I., Cedraschi C. et al. European guidelines for the management of chronic nonspecific low back pain // Europ. Spine J. 2006. Vol. 15. Suppl. 2. P. 192–300.

13. Axer H., Axer M., Sauer H. et al. Falls and gait disorders in geriatric neurology // Clin. Neurol. Neurosurg. 2010. Vol. 112. P. 265–274.

14. Chou R., Qaseem A., Snow V. et al. Diagnosis and treatment of low back pain: a joint clinical practice guideline from the American College of Physicians and the American Pain Society // Ann. intern. Med. 2007. Vol. 147. P. 478–491.

15. Daly R. M., Duckham R. L., Tait J. L. et al. Effectiveness of dual-task functional power training for preventing falls in older people: study protocol for a cluster randomized controlled trial // Trials. 2015. Vol. 16. P. 120.

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. № 3. P. 189–198.

17. Huber-Mahlin V., Giladi N., Herman T. et al. Progressive nature of a higher level gait disorder: a 3-year prospective study // J. Neurol. 2010. Vol. 257. № 8. P. 1279–1286.

18. Ngandu T., Lehtisalo J., Solomon A. et al. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomized controlled trial // Lancet. 2015. Vol. 385. № 9984. P. 2255–2263.

19. Rodakowski J., Saghafi E., Buters M.A., Skidmore E.R. Non-pharmacological interventions for adults with mild cognitive impairment and early stage dementia: An updated scoping review // Molec. Aspects Med. 2015. № 43–44. P. 38–53.

20. Rodríguez-Sánchez E., Mora-Sim S., Patino-Alonso M.C. et al. Prevalence of Cognitive Impairment in Individuals Aged over 65 in an Urban Area: DERIVA Study // BMC Neurol. 2011. Vol. 11. P. 147.

21. Tinetti M.E. Performance-oriented assessment of mobility problems in elderly patients // J. Amer. Geriat. Soc. 1986. Vol. 34. P. 119–126.

22. Waldron N., Laws H., James K. et al. The Prevalence of Cognitive Impairment amongOlder Adults in Jamaica // WIMJ. 2015. Vol. 2. № 2. P. 71–76.

23. WHO Global recommendations on physical activity for health. 2010 (режим доступа https://www.gnicpm.ru/UserFiles/Rekomendacii%20voz.pdf (дата обращения 11.02.2019).

24. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale // Acta psychiat. Scandinav. 1983. Vol. 67. № 6. P. 361–370.

Поступила в редакцию 05.07.2019
После доработки 05.07.2019
Принята к публикации 26.07.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 996–1002

I. V. Avdeeva [1], K. I. Proshchayeu [2], A. N. Ilnitskiy [2], E. V. Tkachenko [3], I. S. Noskova [2]

OPTIMIZATION OF COGNITIVE REHABILITATION OF ELDERLY PATIENT WITH MOTOR DISORDERS ON THE BASIS OF MODERN DIGITAL TECHNOLOGIES

[1] Belgorod State National Research University, 85 Pobeda str., Belgorod 308015, e-mail: irinaavdeeva91@mail.ru; [2] Academy of Postgraduate Education, 91 Volokolamskoe shosse, Moscow 125371, e-mail: a-ilnitski@yandex.ru; [3] N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, 68 Leningradskaya str., Pesochny, St. Petersburg 197758, e-mail: otd-13@niioncologii.ru

The problem of cognitive dysfunction in modern gerontological aid goes to the leading positions, complicating treatment and rehabilitation of concomitant motor disorders. The current trend in recent years is the search and development of models of cognitive rehabilitation of elderly patients on the basis of digital technology with the ability to transfer the effect on the motor and mental sphere. The literature sources of the last 5–7 years describe dozens of methods of cognitive rehabilitation, including on the basis of computer games, which demonstrate the importance of these techniques not only in improving the cognitive abilities of patients, but also in Preservation of social adaptation and daily functioning. At the same time negligible attention is paid to the problem of application of digital technologies in rehabilitation of cognitive disorders in patients with motor disorders and possible transfer of effect between spheres. This study shows the application of the algorithm of action with the participation of electronic devices as cognitive rehabilitation with compensatory mechanism in comorbid patients with motor and moderate cognitive impairment.

Key words: *cognitive disorders, motor disorders, elderly age, cognitive rehabilitation, algorithm of actions*

© Е. А. Карташова, И. В. Сарвилина, 2019
УДК 616.12-008.331.1-07-08-053.9(048)

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1003–1010

Е. А. Карташова[1], *И. В. Сарвилина*[2]

О ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ РОЛИ БЕЛКА ФИБУЛИНА-5 В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО СОСУДИСТОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ИЗОЛИРОВАННОЙ СИСТОЛИЧЕСКОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

[1] Ростовский государственный медицинский университет, 344010, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29, e-mail: eak@aaanet.ru; [2] Медицинский центр «Новомедицина», 344002, Ростов-на-Дону, ул. Социалистическая, 74

Сегодня артериальную гипертензию (АГ) часто связывают с ускоренным старением. В структуре АГ у лиц старше 65 лет распространенной формой является изолированная систолическая АГ (ИСАГ), механизмы развития которой остаются до конца невыясненными. Молекулярная регуляция ремоделирования гладкомышечных клеток сосудов, изменения в которых, наряду с периваскулярным фиброзом и эндотелиальной дисфункцией, приводят к увеличенной чувствительности к проконтрактильным медиаторам и кальцификации, составляет основу механизмов сосудистого старения и жесткости. Клинически этот процесс проявляется в ИСАГ у лиц раннего периода старости и старческого возраста. Поиск новых диагностических молекулярных маркеров и разработка фармакологической коррекции механизмов старения сосудистой стенки при ИСАГ являются актуальными и своевременными задачами. В обзоре проанализированы современные данные медицинской литературы об участии белка фибулина-5 в процессе эластогенеза в сосудистой стенке, а также в молекулярных патологических путях воспаления и старения сосудистой стенки при ИСАГ. Показана роль мультифункциональной сигнальной молекулы фибулина-5 в возрастной потере эластичности сосудистой стенки. Представлена переспектива создания на основе молекулы фибулина-5 лекарственного средства из группы сенолитиков, а также современные возможности применения для предотвращения старения сосудистой стенки препарата «Цитофлавин» (активные компоненты в 1 мл раствора: кислота янтарная, 100 мг; никотинамид, 10 мг; рибоксин, 20 мг; рибофлавина мононуклеотид, 2 мг).

***Ключевые слова:** сосудистое ремоделирование, фибулин-5, молекулярный фенотип, цитопротекторы, Цитофлавин*

В настоящее время фокус клинической медицины смещается в сторону персонализированной медицины, основу которой составляют методы профилактики патологического состояния, его диагностики и лечения, основанные на знаниях о генетических, эпигенетических, транскриптомных, протеомных, метаболомных и метагеномных маркерах, а также совокупности вариативных фенотипических признаков [63].

Гладкомышечные клетки (ГМК) сосудов остаются центром внимания кардиоваскулярной биологии в связи с их ролью в регуляции сокращения сосудистой стенки и сосудистого ремоделирования. Взаимодействие ГМК сосудов с другими клетками является ключевым в регуляции эндотелиальной функции и ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) в сосудистой стенке [7]. Дискутабельным остается вопрос о роли ГМК сосудов в развитии таких патологических процессов, как атеросклероз, артериальная гипертензия (АГ), в том числе изолированная систолическая АГ (ИСАГ). АГ имеет наибольшую распространенность среди сердечно-сосудистой патологии — $^{2}/_{3}$ населения Земли старше 65 лет имеют АГ [24]. Итоги реализации Федеральной целевой программы по профилактике и лечению АГ в России в 2002–2012 гг. продемонстрировали наличие зарегистрированной АГ у 8,1 млн лиц при увеличении эффективности лечения заболевания до 30,4 % (в США показатель составляет 56 %) [2].

Сегодня АГ часто связывают с ускоренным старением. В структуре АГ у лиц старше 65 лет наиболее распространенная — ИСАГ с уровнем САД>140 мм рт. ст. и ДАД<90 мм рт. ст., являющаяся фактором риска ИБС, инсульта, сердечной недостаточности, терминальной почечной недостаточности и летального исхода [49]. Остается открытым вопрос: какие механизмы

формируют эти уровни САД и ДАД у лиц раннего периода старости и старческого возраста? Поиск новых диагностических молекулярных маркеров и разработка фармакологической коррекции механизмов старения сосудистой стенки у пациентов с ИСАГ являются актуальными и своевременными задачами. Молекулярная регуляция ремоделирования ГМК сосудов, изменения в которых, наряду с периваскулярным фиброзом и эндотелиальной дисфункцией, приводят к увеличенной чувствительности к проконтрактильным медиаторам и кальцификации, составляет основу механизмов сосудистого старения и жесткости. Клинически этот процесс проявляется в ИСАГ у лиц раннего периода старости и старческого возраста [64]. Важным компонентом сосудистого риска при развитии атеросклероза, связанного с прогрессированием ИСАГ, является воспаление сосудистой стенки, одним из участников которого является белок фибулин-5. Дисрегуляция экспрессии фибулина-5 при воспалении в сосудистой стенке определяется активностью оси транскрипционный фактор *SOX9*/гистоновые деацетилазы (*HDACs*) и может стать перспективной мишенью для разработки новых лекарств для предотвращения старения сосудистой стенки [45].

Таким образом, проблема исследования прогностической роли протеомных маркеров в прогрессировании патологического сосудистого ремоделирования у пациентов с ИСАГ и ассоциированных с ней факторов риска в рамках развития концепции персонализированной медицины имеет высокую актуальность в настоящее время.

Белок фибулин-5 и его роль в процессе эластогенеза в сосудистой стенке при ИСАГ

Одним из компонентов поддержания упругости сосудистой стенки является процесс эластогенеза [46]. Исследования показали, что для последнего необходим белок фибулин-5, или эмбриональный сосудистый белок с шестью кальций-связывающими подобными эпидермальному фактору роста (*EGF*) повторами, необходимый для устранения дезорганизации эластичных волокон в ГМК сосудов. Фибулин-5 — это гликопротеин с молекулярной массой 66 кДа семейства матриксных белков, секретируемый различными типами клеток, включая ГМК сосудов, фибробласты и эндотелиальные клетки [67]. Фибулин-5 был идентифицирован в 1999 г. группами ученых, занимавшихся поиском генов, ответственных за модуляцию фенотипа ГМК сосудов и развитие сердечно-сосудистой системы [25]. Фибулин-5 включает мотив *Arg-Gly-Asp* на *N*-концевом домене и взаимодействует с интегринами клеточной поверхности ($\alpha v\beta 5$, $\alpha v\beta 3$ и $\alpha 9\beta 1$) [41]. Тандемные массивы кальций-связывающих *EGF*-подобных доменов и *C*-концевой фибулиновый домен взаимодействуют с компонентами эластичного волокна — эластином [66], эмилином [69] и лизилоксидазоподобным ферментом 1-го типа (*LOXL*1) [36].

В процессе упругой сборки эластичных волокон, тропоэластины откладываются на микрофибриллах, выстраиваются в упорядоченном порядке и сшиты ферментами *LOXL* с образованием зрелого эластина, который придает волокнам упругие свойства [51]. Тропоэластины выполняют фазовый переход—коацервацию из растворимых мономеров в нерастворимые агрегаты, что обеспечивает концентрирование и выравнивание тропоэластина перед сшивкой [60]. Для встраивания тропоэластина необходимы микрофибриллы, которые состоят из фибриллина-1 и -2, выступающих в качестве каркасов и направляющих морфогенез эластичных волокон. Нарушение синтеза и функциональной активности фибриллина-1 и -2 приводит к поломкам эластогенеза [9]. Конечная стадия сшивания инициируется окислительным дезаминированием тропоэластинов с участием ферментов *LOXL* [22].

Фибулин-5 индуцирует сборку и созревание эластичных волокон путем организации тропоэластина и активации сшивающих ферментов на микрофибриллах. Расположение фибулина-5 на микрофибриллах способствует коацервации и выравниванию тропоэластинов на микрофибриллах, а также облегчает сшивание тропоэластина путем связывания *LOXL* 1-го, 2-го и 4-го типа, которые секретируются фибробластами и ГМК сосудов [40].

Протеолитическое расщепление фибулина-5 прекращает взаимодействие фибулина-5 с микрофибриллой, что приводит к снижению активности белка и потере эластичности. Фибулин-5 работает как интегрин-лиганд через *N*-концевой домен. После того, как фибулин-5 взаимодействует с микрофибриллами, тропоэластины накапливаются на белках фибулин-5 и коацерват. Ферменты *LOXL*, связанные на *C*-концевом доме-

не фибулина-5, способствуют сшиванию агрегированных тропоэластинов для формирования зрелых эластичных волокон. Количество полноразмерного фибулина-5 уменьшается с возрастом, тогда как укороченный фибулин-5, не способствующий эластогенезу, увеличивается [68]. Укороченный фибулин-5 не может связываться с микрофибриллами или интегринами, содействовать организации сборки эластичного волокна, хотя укороченный фибулин-5 связывает тропоэластин и усиливает коацервацию последнего.

Показано, что концентрация фибулина-5 имеет решающее значение для организации эластичных волокон в условиях отсутствия сыворотки в культуре клеток. Выявлены высокие концентрации фибулина-5 в сыворотке крови у стареющих мышей, а также при атеросклеротическом поражении сосудов, в том числе при ИСАГ [43].

Таким образом, уменьшение полноразмерного белка фибулина-5, вызванное возрастным протеолитическим расщеплением, способствует потере эластогенного потенциала ГМК при старении сосудистой стенки и развитию атеросклероза и ИСАГ.

Фибулин-5 — регулятор воспаления в сосудистой стенке при ИСАГ

Воспаление сосудов рассматривается в качестве важного компонента сосудистого риска при развитии атеросклероза и прогрессировании ИСАГ. Это связано со стимуляцией пролиферации, миграции, дедифференцировки и сокращения ГМК сосудов цитокинами. В то время как на более поздних стадиях сосудистого воспаления наблюдают апоптоз ГМК сосудов, на более ранних стадиях сами ГМК сосудов управляют окислительным стрессом и воспалением.

Эпигенетические модификации играют решающую роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний [38]. В сосудистых клетках эпигенетические механизмы, опосредуемые *HDACs*, регулируют экспрессию генов, участвующих в контроле дифференцировки и сократительной способности клеток ГМК сосудов, пролиферации клеток, воспалении и накоплении ЭЦМ [23]. Показана дисрегуляция экспрессии фибулина-5 в стенке сосуда при воспалении, которая зависит от активности оси транскрипционный фактор *SOX9*/*HDACs*. Экспрессия фибулина-5 подавляется в сосудистой стенке при воспалении, исследованы молекулярные механизмы, лежащие в основе ингибирования сосудистого фибулина-5 медиаторами воспаления [11].

В ГМК сосудов человека селективное ингибирование *HDAC* I класса устраняет вызванное воспалением подавление экспрессии фибулина-5. В ГКМ сосудов воспалительные стимулы снижали общий уровень ацетилирования гистона *H3* в несосудистых клетках, ингибитор *HDACs MS-275* противодействовал этому эффекту: препарат эффективно модулировал расположение ацетилированных гистонов на проксимальном промоторе фибулина-5. Поскольку снижение ацетилирования промотора связано с репрессией транскрипции [59], эти данные указывают на роль эпигенетики в подавлении экспрессии фибулина-5 под действием воспалительных стимулов [50]. Участие транскрипционных механизмов в модуляции экспрессии фибулина-5 воспалительными стимулами и ингибиторами *HDAC* связано с регуляцией на уровне проксимального промотора фибулина 5 (длиной 329 п. н.), который содержит критические элементы для его экспрессии [18].

В исследованиях фибулин-5 идентифицирован как ген-мишень транскрипционного фактора *SOX9* в ГМК сосудов человека [16]. Поскольку фибулин-5 защищает структуру стенки сосуда от повреждения [11], а *SOX9* необходим для нормального расположения белков ЭЦМ [35], параллельная регуляция *SOX9* и фибулина-5 в сосудистой стенке согласуется с ролью обоих белков в нарушении ремоделирования ЭЦМ в сосудах. Подавление экспрессии фибулина-5 и *SOX9* было связано с ускоренным апоптозом в ГМК и мезенхимальных клетках [5].

Обнаружено, что экспрессия *SOX9* ингибировалась медиаторами воспаления в ГМК сосудов [31, 44]. Временно́й паттерн экспрессии *SOX9* в ГМК сосудов на фоне введения *TNF-α* (предшествующий понижающей регуляции экспрессии фибулина-5) и способность избыточной экспрессии *SOX9* преодолевать ингибирующее действие воспалительных стимулов на экспрессию фибулина-5 подтверждают роль транскрипционного фактора в регуляции экспрессии гена фибулина-5. Ингибиторы *HDAC* индуцировали экспрессию *SOX9* и отменяли понижающую регуляцию как *SOX9*, так и фибулина-5, вызванную воспалительными стимулами. Кроме того, в клетках с введенным *TNF-α*, ингибитор *HDACs MS-275* предотвращал снижение связывания *SOX9* с промотором гена фибулина-5. Эти резуль-

таты подтверждают, что ингибиторы *HDAC* модулируют экспрессию гена фибулина-5 путем усиления привлечения *SOX*9 на его промотор.

Таким образом, результаты *in vitro* и *in vivo* исследований указывают на патофизиологическую роль подавления экспрессии фибулина-5 в сосудистой стенке, его тесную связь с воспалительным компонентом этого заболевания и способность ингибиторов *HDACs* нормализовать экспрессию фибулина-5 с помощью *SOX*9-зависимого механизма в условиях развития атеросклероза и формирования ИСАГ.

Гладкомышечные клетки сосудов и старение сосудистой стенки: роль фибулина-5

Старение является основным фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и является клеточной программой, которая вызывает остановку роста клетки, сопровождающуюся различными фенотипическими изменениями, включая ремоделирование хроматина, метаболическое перепрограммирование, усиление аутофагии и реализацию сложного провоспалительного секретома (the senescence-associated secretory phenotype, SASP) [34]. Клинически процесс формирования жесткости сосудистой стенки и сосудистое старение проявляется при ИСАГ у лиц раннего периода старости и старческого возраста, которая характеризуется повышенным тонусом ГМК сосудов, их дифференцировкой и последующей кальцификацией интимы [30].

В исследованиях показана роль экспрессии тандема белков сывороточного фактора ответа (serum response factor, *SRF*)/миокардина в развитии ускоренного старения сосудистой стенки [52, 70]. *SRF* может регулировать экспрессию гена фибулина-5, обеспечивая способность сосудистой стенки к сокращению [37]. Хроническое воспаление невысокой активности является осложняющим фактором для заболеваний, связанных с возрастом, что подтверждается повышением активности *IL*-1,6 при атеросклерозе [15, 19, 33].

Старение является результатом метаболической и протеостатической дисфункции. Сигнальный путь мишени рапамицина млекопитающих (mammalian target of rapamycin, *mTOR*) способен регулировать *SASP*, аутофагию и остановку роста стареющих клеток [10, 29]. Укорочение теломер коррелирует с увеличением смертности людей старше 60 лет [21]. Активация митоген-активируемой протеин-киназы (mitogen-activated protein kinase, *MAPK*) *p*38 происходит в ответ на окислительный стресс, повреждение ДНК, сокращение теломер [6, 53]. Гиперэкспрессия фибулина-5 увеличивает базальную и трансформирующего фактора роста β (ТФР-β) стимулированную активацию *p*38 *MAPK* [28]. Продуцирование *SASP* (провоспалительные цитокины, хемокины, факторы роста и протеазы) регистрируется в стареющих клетках [4, 13]. Ядерный фактор к*B* (*NF*-к*B*) является ключевым регулятором транскрипции *SASP* [3, 27].

Различные комбинации ключевых факторов *SASP*, такие как провоспалительные и ТФР-β секретомы, регулируются независимо. Провоспалительный секретом *SASP* регулируется передачей сигналов от *IL*-1. *IL*-1α частично воспроизводит воспалительный *SASP in vitro*, *IL*-1β может уменьшать интенсивность экспрессии *SASP* [20]. Юкстакринный *Notch*-сигнальный путь способствует секреции ТФР-β-обогащенного секретома [65]. Гипоксия при ИСАГ усиливает экспрессию фибулина-5 посредством ТФР-β-обогащенного секретома и блокирует взаимодействие интегрин—фибронектин в сосудистой стенке при старении.

Одна из основных функций *SASP* — привлечение факторов иммунной системы для уничтожения стареющих клеток [26, 48]. Компоненты *SASP* участвуют в ремоделировании фиброзной ткани — матриксные металлопротеиназы (*MMPs*) способствуют деградации фиброзных бляшек в ЭЦМ [14, 56]. *IL*-8, регулируемый клеточным ростом онкогена α (growth-regulated oncogene α — *GRO*α), *IL*-6 и белок, связывающий иммуноглобулин 7 (immunoglobulin binding protein — *IGBP*-7), входят в число компонентов *SASP*, ускоряющих старение [57]. *IL*-8 стимулирует синтез *MMP*7 и деградацию фибулина-5, что усиливает старение в стенке сосуда.

Активность *IL*-1α, -6, *TNF*-α, *NF*-к*B* и других воспалительных факторов повышается в тканях с возрастом, а ингибирование фактора *NF*-к*B* обеспечивает устойчивость к прогерии [32]. Фибулин-5 ингибирует активность *NF*-к*B* и ограничивает активность процесса старения [12].

Стареющие клетки идентифицированы при атеросклерозе в ГМК сосудов в месте образования бляшки [17, 61]. Макрофаги были первыми стареющими клетками с высоким уровнем продукции

SASP и их ключевым вкладом в развитие атеросклероза. Стволовые клетки ГМК характеризуются снижением способности дифференцироваться и восстанавливать мышечную ткань, что является основной причиной их старения [62]. С возрастом стволовые клетки ГМК стареют и активируют *p16INK4a* [58]. Этот факт может способствовать компенсаторному ТФРβ-опосредованному повышению уровня экспрессии фибулина-5.

Фибулин-5 и поиск новых терапевтических стратегий для ИСАГ

Выявление молекулярных признаков старения помогло осмыслить процесс старения и продемонстрировало перспективу отсрочки развития заболеваний, связанных со старением, в том числе ИСАГ, с применением биотаргетной и цитопротективной терапии. Мощная эластогенная активность фибулина-5 может обеспечить будущее его терапевтическое применение в качестве сенолитика (лекарственного средства, фармакологическим эффектом которого является способность избирательно инициировать гибель постаревших клеток) при атеросклерозе сосудов и ИСАГ.

Перспективное применение при ИСАГ фибулина-5 посредством ТФР-β-обогащенного секретома блокирует взаимодействие интегрин—фибронектин в сосудистой стенке при старении, снижая потерю эластичности сосудов [8]. Последующее применение синдекана-4 в качестве биотаргетного средства стимулирует передачу сигналов от ТФР-2 и подавляет кальцификацию ГМК сосудов [47]. Известно, что фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, запускает дедифференцировку ГМК сосудов посредством активации осей янус-киназ и *p38 MAPKs*. Фибулин-5, как биотаргетный препарат, может усилить этот процесс в ответ на окислительный стресс и повреждение ДНК.

Известно, что снижение уровня *MMP-2* в стенке сосуда защищает от развития сосудистого ремоделирования, вызванного ангиотензином II (АнII), без влияния на повышение давления. Эндотелиальные клетки регулируют развитие сосудистого ремоделирования посредством активации про-*MMP2*. Фибулин-5 способствует повышению ТФР-β опосредованной активности *MMP-2*, таким образом останавливая процесс сосудистого ремоделирования и контрактильные эффекты Ан II [55].

Эффективное терапевтическое окно в случае применения фибулина-5 в качестве сенолитика может быть ограничено у пациентов с ИСАГ с нарушением функции иммунной системы, при котором клетки, погибшие по механизму апоптоза, не удаляются и возникает вторичный некроз с высвобождением провоспалительных факторов, связанных с опасностью появления патологических молекулярных паттернов, что еще больше усугубляет системное хроническое воспаление [42].

Фармакологические подходы, направленные на сохранение экспрессии фибулина-5, могут быть полезны для предотвращения дезорганизации ЭЦМ, вызванной воспалением при развитии атеросклероза и старении сосудистой стенки при ИСАГ. Одним из таких подходов является перспектива применения *HDACs* в качестве терапевтических средств для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Еще одной группой лекарственных препаратов, способных косвенно увеличивать экспрессию фибулина-5, являются цитопротекторы. В нашем исследовании выявлена значимая стабилизация показателей центральной гемодинамики, структурно-геометрических показателей сердца и сосудов, липидограммы и коагулограммы при применении препарата «Цитофлавин» (активные компоненты в 1 мл раствора: кислота янтарная, 100 мг; никотинамид, 10 мг; рибоксин, 20 мг; рибофлавина мононуклеотид, 2 мг) у пациентов с ИСАГ [1, 39]. Цитофлавин продемонстрировал метаболическую и антигипоксантную активность, связанную с влиянием на экспрессию мультифункциональных молекул плазмы крови и ГМК сосудов, являющихся участниками ремоделирования сосудистой стенки. На фоне приема Цитофлавина в оптимизированном режиме лечения показано снижение уровня ТФРβ1 в крови, что свидетельствует о существовании ТФРβ1-опосредованного уменьшения активации синтеза АнII, об ограничении ремоделирования в сосудистой стенке, формирования фиброза с отложением ЭЦМ, нарушения генетической экспрессии [54].

Механизм блокады синтеза ТФРβ препаратом «Цитофлавин» через стимуляцию рецепторов 1-го типа к АнII в фибробластах обусловлен снижением синтеза протеин-киназы С, *p38 MAPK*, ядерного белка *AP-1*, синтеза фибронектина и опосредован НАД(Ф)Н-оксидазой.

Цитофлавин влияет на толщину и жесткость сосудистой стенки через миофибриллогенез и взаи-

модействие актиновых филаментов в ГМК сосудов путем снижения экспрессии фактора Ia, индуцируемого гипоксией в плазме крови и ГМК до критического уровня, и ТФРβ-опосредуемого увеличения экспрессии фибулина-5.

Заключение

Раскрыта ключевая роль клеточного старения в процессе ремоделирования сосудистой стенки человека, что связано с формированием изолированной систолической артериальной гипертензии у лиц раннего периода старости и старческого возраста. Показана роль мультифункциональной сигнальной молекулы фибулина-5 в возрастной потере эластичности сосудистой стенки при сердечно-сосудистой патологии, в реализации фармакологических эффектов цитопротекторов на примере Цитофлавина. Создание на основе молекулы фибулина-5 лекарства может способствовать расширению группы сенолитиков, или «тканеспецифичных» *SASP*-модулирующих препаратов, для предотвращения старения сосудистой стенки.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Карташова Е.А., Сарвилина И.В.* Влияние цитофлавина на молекулярные механизмы ремоделирования миокарда и сосудистой стенки у пациентов с систолической артериальной гипертензией // Кардиол. сердечно-сосудистая хир. 2018. Т. 11. № 5. С. 40–46.

2. *Чазова И.Е., Ощепкова Е.В.* Итоги реализации Федеральной целевой программы по профилактике и лечению артериальной гипертензии в России в 2002–2012 гг.// Вестн. РАМН. 2013. № 2. С. 4–11.

3. *Acosta J.C., Banito A., Wuestefeld T. et al.* A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence // Nat. Cell Biol. 2013. № 15. P. 978–990.

4. *Acosta J.C., O'Loghlen A., Banito A. et al.* Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence // Cell. 2008. № 133. P. 1006–1018.

5. *Akiyama H., Kim J.-E., Nakashima K. et al.* Osteochondroprogenitor cells are derived from Sox9 expressing precursors// Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2005. № 102. P. 14665–14670.

6. *Baker D.J., Childs B.G., Durik M. et al.* Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan // Nature. 2016. № 530. P. 184–189.

7. *Bochaton-Piallat M.-L., Bäck M.* Novel concepts for the role of smooth muscle cells in vascular disease: towards a new smooth muscle cell classification // Cardiovasc. Res. 2019. Vol. 114. № 4. P. 477–480.

8. *Borland S.J., Morris T.G., Borland S.C. et al.* Regulation of vascular smooth muscle cell calcification by syndecan-4/FGF-2/PKCalpha signalling and cross-talk with TGFbeta // Cardiovasc. Res. 2017. № 113. P. 1639–1652.

9. *Carta L., Pereira L., Arteaga-Solis E. et al.* Fibrillins 1 and 2 perform partially overlapping functions during aortic development // J. biol. Chem. 2006. № 281. P. 8016–8023. doi:10.1074/jbc.M511599200

10. *Cawthon R.M., Smith K.R., O'Brien E. et al.* Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older // Lancet. 2003. № 361. P. 393–395.

11. *Chapman S.L., Sicot F.X., Davis E.C. et al.* Fibulin-2 and fibulin-5 cooperatively function to form the internal elastic lamina and protect from vascular injury // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2010. № 30. P. 68–74.

12. *Childs B.G., Baker D.J., Wijshake T. et al.* Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis // Science. 2016. № 354. P. 472–477.

13. *Coppé J.-P., Desprez P.-Y., Krtolica A. et al.* The senescenceassociated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression// Ann. Rev. Pathol. 2010. № 5. P. 99–118.

14. *Demaria M., Ohtani N., Youssef S.A. et al.* An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA // Dev. Cell. 2014. № 31. P. 722–733.

15. *Franceschi C., Campisi J.* Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2014 Vol. 69. № 1. P. S4–S9.

16. *Garcı´a-Ramı´rez M., Martı´nez-Gonza´lez J., Juan-Babot J.O. et al.* Transcription factor SOX18 is expressed in human coronary atherosclerotic lesions and regulates DNA synthesis and vascular cell growth // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005. № 25. P. 2398–2403.

17. *Gopinath S.D., Rando T.A.* Stem cell review series: aging of the skeletal muscle stem cell niche // Aging Cell. 2008. № 7. P. 590–598.

18. *Guadall A., Orriols M., Rodrı´guez-Calvo R. et al.* Fibulin-5 is up-regulated by hypoxia in endothelial cells through a hypoxia-inducible Factor-1 (HIF-1a)-dependent Mechanism // J. biol. Chem. 2011. № 286. P. 7093–7103.

19. *Herranz N., Gallage S., Mellone M. et al.* mTOR regulates MAP KAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype // Nat. Cell Biol. 2015. № 17. P. 1205–1217.

20. *Hoare M., Ito Y., Kang T.-W. et al.* NOTCH1 mediates a switch between two distinct secretomes during senescence // Nat. Cell Biol. 2016. № 18. P. 979–992.

21. *Ito K., Hirao A., Arai F. et al.* Reactive oxygen species act through p38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells // Nat. Med. 2006. № 12. P. 446–451.

22. *Kagan H.M., Li W.* Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell // J. Cell. Biochem. 2003. № 88. P. 660–672.

23. *Kang T.-W., Yevsa T., Woller N. et al.* Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development // Nature. 2011. № 479. P. 547–551.

24. *Kearney P., Whelton M., Reynolds K.* Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review // J. Hypertens. 2004. Vol. 22. № 1. P. 11–19.

25. *Kowal R.C., Richardson J.A., Miano J.M. et al.* EVEC, a novel epidermal growth factor-like repeat-containing protein upregulated in embryonic and diseased adult vasculature // Circ. Res. 1999. № 84. P. 1166–1176.

26. *Krizhanovsky V., Yon M., Dickins R.A. et al.* Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis // Cell. 2008. № 134. P. 657–667. doi:10.1016 /j.cell .2008.06.049

27. *Kuilman T., Michaloglou C., Vredeveld L.C.W. et al.* Oncogeneinduced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network // Cell. 2008. № 133. P. 1019–1031.

28. *Kuilman T., Peeper D.S.* Senescence-messaging secretome: SMSing cellular stress // Nat. Rev. Cancer. 2009. № 9. P. 81–94.

29. *Laberge R.-M., Sun Y., Orjalo A.V. et al.* MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation // Nat. Cell Biol. 2015. № 17. P. 1049–1061.

30. *Lacolley P., Li Z., Challande P. et al.* SRF/myocardin: a novel molecular axis regulating vascular smooth muscle cell stiffening in hypertension // Cardiovasc. Res. 2017. № 113. P. 120–122.

31. Lee Y.-H., Albig A.R., Regner M.A. et al. Fibulin-5 initiates epithelial–mesenchymal transition (EMT) and enhances EMT induced by TGF-β in mammary epithelial cells via a MMP-dependent mechanism // Carcinogenesis. 2008. Vol. 29. № 12. P. 2243–2251.

32. Lee Y.H., Schiemann W.P. Fibromodulin suppresses nuclear factor-kappaB activity by inducing the delayed degradation of IKBA via a JNK-dependent pathway coupled to fibroblast apoptosis // J. biol. Chem. 2011 Vol. 286. № 8. P. 14–22.

33. Libby P. Inflammation in atherosclerosis // Nature. 2002. № 420. P. 868–874.

34. Lin M.E., Chen T.M., Wallingford M.C. et al. Runx2 Deletion in Smooth muscle Cells Inhibits Vascular Osteochondrogenesis and Calcification but not Atherosclerotic Lesion Formation // Cardiovasc. Res. 2016. Vol. 112. № 2. P. 606–616.

35. Lincoln J., Kist R., Scherer G. et al. Sox9 is required for precursor cell expansion and extracellular matrix organization during mouse heart valve development // Dev. Biol. 2007. № 305. P. 120–132.

36. Liu X., Zhao Y., Gao J. et al. Elastic fi ber homeostasis requires lysyl oxidaselike 1 protein // Nat. Genet. 2004. № 36. P. 178–182.

37. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L. et al. The hallmarks of aging // Cell. 2013. № 153. P. 1194–1217.

38. Loscalzo J., Handy D.E. Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease (2013 Grover Conference series) // Pulm. Circ. 2014. № 4. P. 169–174.

39. Manabe I., Shindo T., Nagai R. Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy // Circ. Res. 2002. № 91. P. 1103–1113.

40. Molnar J., Fong K.S., He Q.P. et al. Structural and functional diversity of lysyl oxidase and the LOX-like proteins // Biochim. Biophys. Acta. 2003. № 1647. P. 220–224.

41. Nakamura T., Lozano P.R., Ikeda Y. et al. Fibulin-5/DANCE is essential for elastogenesis in vivo // Nature. 2002. № 415. P. 171–175.

42. Natarajan R. Drugs targeting epigenetic histone acetylation in vascular smooth muscle cells for restenosis and atherosclerosis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2011. № 31. P. 725–727.

43. Nguyen A.D., Itoh S., Jeney V. et al. Fibulin-5 is a novel binding protein for extracellular superoxide dismutase // Circ. Res. 2004. № 95. P.1067–1074.

44. Niccoli T., Partridge L. Ageing as a risk factor for disease // Curr. Biol. 2012. № 22. P. R741–R752.

45. Orriols M., Varona S., Marti-Pamies I. et al. Down-regulation of Fibulin-5 is associated with aortic dilation: role of inflammation and epigenetics // Cardiovasc. Res. 2016. № 110. P. 431–442.

46. Pasquali-Ronchetti I., Baccarani-Contri M. Elastic fiber during development and aging // Microsc. Res. Tech. 1997. № 38. P. 428–435.

47. Piera-Velazquez S., Hawkins D.F., Whitecavage M.K. et al. Regulation of the human SOX9 promoter by Sp1 and CREB // Exp. Cell. Res. 2007. № 313. P. 1069–1079.

48. Pons D., De Vries F.R., Van Den Elsen P.J. et al. Epigenetic histone acetylation modifiers in vascular remodelling: new targets for therapy in cardiovascular disease // Europ. Heart. J. 2009. № 30. P. 266–277.

49. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension. Final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). SHEP Cooperative Research Group // J.A.M.A. 1991. № 265. P. 3255–3264.

50. Qu X., Pro¨ll M., Neuhoff C., Zhang R. et al. Sulforaphane epigenetically regulates innate immune responses of porcine monocyte-derived dendritic cells induced with lipopolysaccharide // PLoS ONE. 2015. № 10. P. e0121574.

51. Rosenbloom J., Abrams W.R., Mecham R. Extracellular matrix 4: the elastic fiber // FASEB J. 1993. № 7. P. 1208–1218.

52. Safar M.E., O`Rourke M.F., Frohlich E.D. Blood pressure and arterial wall mechanics in cardiovascular diseases. London: Springer-Verlag London, 2014

53. Schiemann W.P., Blobe G.C., Kalume D.E. et al. Context-specific Effects of Fibulin-5 (DANCE/EVEC) on Cell Proliferation, Motility, and Invasion // J. biol. Chem. 2002. № 277. P. 27367–27377.

54. Semenza G. Hypoxia-Inducible Factor 1 and Cardiovascular Disease // Ann. Rev. Physiol. 2014. № 76. P. 39–56.

55. Sharpless N.E., Sherr C.J. Forging a signature of in vivo senescence // Nat. Rev. Cancer. 2015. № 15. P. 397–408.

56. Sousa-Victor P., Gutarra S., García-Prat L. et al. Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence // Nature. 2014. № 506. P. 316–321.

57. Tilstra J.S., Robinson A.R., Wang J. et al. NF-κB inhibition delays DNA damage-induced senescence and aging in mice // J. clin. Invest. 2012. № 122. P. 2601–2612.

58. Tsuda T. Extracellular Interactions between Fibulins and Transforming Growth Factor (TGF)-β in Physiological and Pathological Condition // Int. J. molec. Sci. 2018. Vol. 19. № 9. P. 2787.

59. Turner B.M. Decoding the nucleosome // Cell. 1993. № 75. P. 5–8.

60. Urry D.W. Entropic elastic processes in protein mechanisms. I. Elastic structure due to an inverse temperature transition and elasticity due to internal chain dynamics // J. Protein Chem. 1988. № 7. P. 1–34.

61. Uryga A.K., Bennett M.R. Ageing induced vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis // J. Physiol. 2016. № 594. P. 2115–2124.

62. Wajapeyee N., Serra R.W., Zhu X. et al. Oncogenic BRAF induces senescence and apoptosis through pathways mediated by the secreted protein IGF BP7 // Cell. 2008. № 132. P. 363–374.

63. Whitcomb D.C. What is personalized medicine and what should it replace? // Nat. Rev. Gastroent. Hepat. 2012. Vol. 9. № 7. P. 418–424.

64. Wirth A., Wang S., Takefuji M. et al. Age-dependent blood pressure elevation is due to increased vascular smooth muscle tone mediated by G-protein signaling // Cardiovasc. Res. 2016. № 109. P. 131–140.

65. Xue W., Zender L., Miething C. et al., Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas // Nature. 2007. № 445. P. 656–660.

66. Yanagisawa H., Davis E.C., Starcher B.C. et al. Fibulin-5 is an elastin-binding protein essential for elastic fi bre development in vivo // Nature. 2002. № 415. P. 168–171.

67. Yanagisawa H., Schluterman M.K., Brekken R.A. Fibulin-5, an integrin-binding matricellular protein: its function in development and disease // J. Cell Commun. Signal. 2009. Vol. 3. № 3–4. P. 337–347.

68. Yanagisawa H., Schluterman M.K., Brekken R.A. Fibulin-5, an integrin-binding matricellular protein: its function in development and disease // J. Cell Commun. Signal. 2009. Vol. 3. № 3–4. P. 337–347.

69. Zanetti M., Braghetta P., Sabatelli P. Et al. EMILIN-1 deficiency induces elastogenesis and vascular cell defects // Molec. Cell. Biol. 2004. № 24. P. 638–650.

70. Zhou N., Lee J.J., Stoll S. et al. Inhibition of SRF/myocardin reduces aortic stiffness by targeting vascular smooth muscle cell stiffening in hypertension // Cardiovasc. Res. 2017. № 113. P. 171–182.

Поступила в редакцию 06.08.2019
После доработки 07.08.2019
Принята к публикации 17.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1003–1010

E. A. Kartashova [1], *I. V. Sarvilina* [2]

ABOUT THE PROGNOSTIC ROLE OF FIBULIN-5 PROTEIN IN THE PROGRESSION OF PATHOLOGICAL VASCULAR REMODELING IN PATIENTS WITH ISOLATED SISTOLIC ARTERIAL HYPERTENSION

[1] Rostov State Medical University, 29 Nakhichevanskiy per., Rostov-on-Don 344022, e-mail: eak@aaanet.ru;
[2] Medical Center «Novomeditsina», 74 Socialisticheskaya str., Rostov-on-Don 344002

Today, arterial hypertension (AH) is often associated with accelerated aging. In the structure of AH in persons over 65 years of age, the most common form is isolated systolic hypertension (ISAH), the mechanisms of development of which remain unexplained. Molecular regulation of remodeling of smooth muscle cells of vessels, changes in which, along with perivascular fibrosis and endothelial dysfunction, lead to increased sensitivity to procontractile mediators and calcification, forms the basis of mechanisms of vascular aging and rigidity. Clinically, this process is manifested in ISAH in individuals of an early period of old age and senile age. The search for new diagnostic molecular markers and the development of pharmacological correction of mechanisms of vascular wall aging in ISAH is an urgent and timely task. The review presents an analysis of current data from medical literature about the participation of fibulin-5 protein in the process of elastogenesis in the vascular wall, as well as in molecular pathological pathways of inflammation and aging of the vascular wall in ISAH. The role of multifunctional signal molecule fibulin-5 in the age-related loss of elasticity of the vascular wall is shown. Presented is the perspective of creating a drug from the group of senolitics based on fibulin-5 molecule, as well as modern application possibilities for preventing aging of the vascular wall of the drug Cytoflavin (active ingredients in 1 ml of solution: succinic acid, 100 mg; nicotinamide, 10 mg; riboxin, 20 mg riboflavin mononucleotide, 2 mg).

Key words: *vascular remodeling, fibulin-5, molecular phenotype, cytoprotectors, Cytoflavin*

80 лет

Основан в 1937
САМСОН-МЕД

Самсон-Мед – инновационное фармацевтическое предприятие полного производственного цикла

Эволюционные решения на службе здоровья

Самсон-Мед является крупнейшим в России производителем субстанций на основе биологически активных веществ животного происхождения. Субстанции, производимые с помощью современных технологий, используются как для производства собственных лекарственных препаратов, так и для других фармацевтических предприятий («STADA», «НПО Петровакс» и др.)

- Разработка оригинальных лекарственных препаратов
- Современное высокотехнологичное производство
- Собственное производство субстанций
- География применения препаратов: Россия, СНГ
- 80 лет на фармацевтическом рынке

Россия, 196158, Санкт-Петербург
Московское шоссе, дом 13

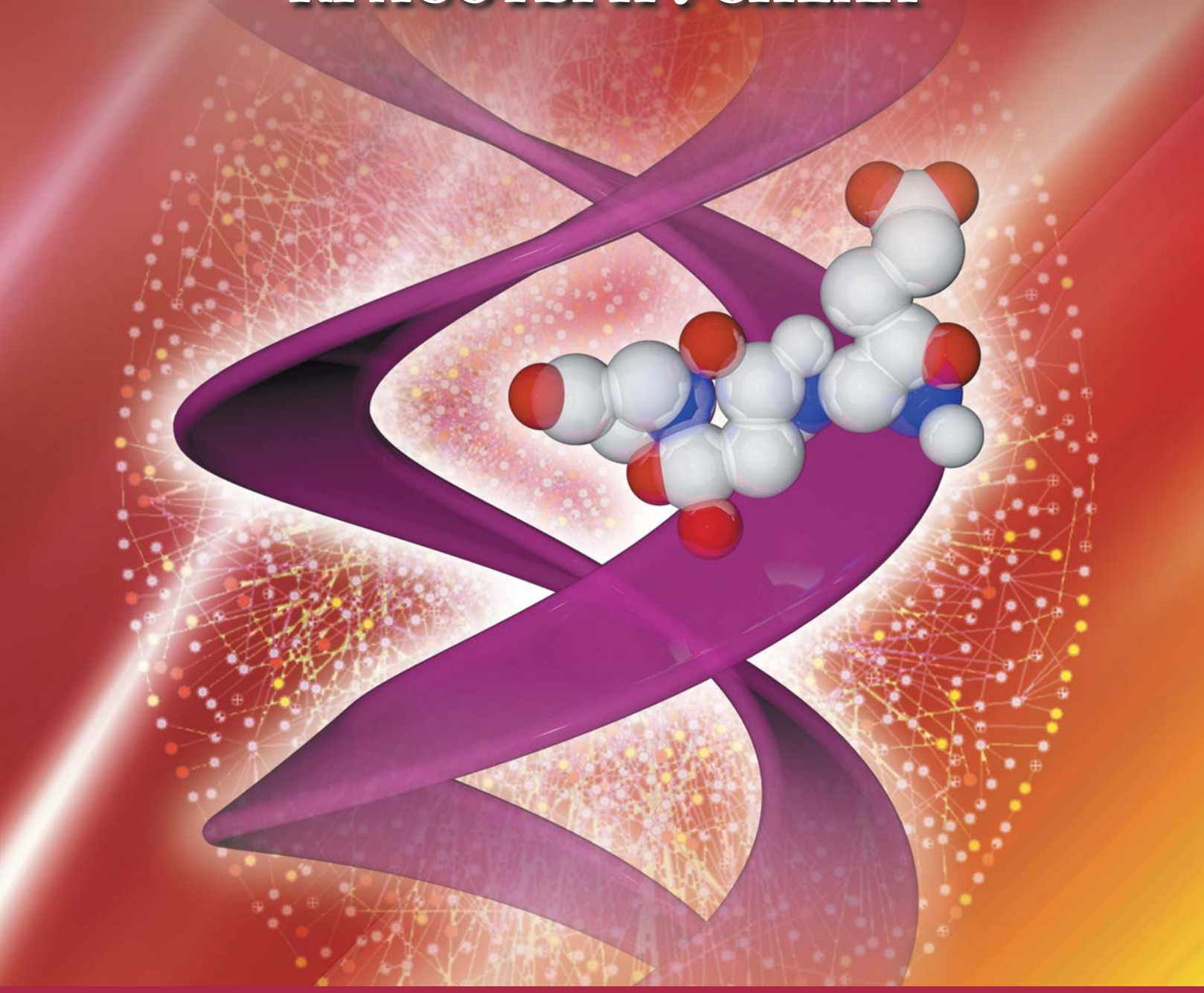
8 (800) 1000-554
(ЗВОНОК БЕСПЛАТНЫЙ)

vk.com/samsonmed
@samsonmed78
samson.med

samsonmed.ru

GARMONIA, Ltd.

ПЕПТИДЫ - МОЛЕКУЛЫ ЗДОРОВЬЯ, КРАСОТЫ И УСПЕХА



www.garmonia.ltd
ibg@gerontology.ru

© Коллектив авторов, 2019
УДК 616.12-008.313.2-085-053.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1011–1016

Е. П. Попова[1], О. Т. Богова[2], С. А. Чандирли[2], С. Н. Пузин[1, 2, 3], Д. А. Сычев[2], В. П. Фисенко[1]

ЭФФЕКТ АМИОДАРОНА НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

[1] Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4, e-mail: kispo-pharm@mail.ru; [2] Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1; [3] Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, 141534, Московская обл., Солнечногорский район, д. Лыткино, 777

Фибрилляция предсердий более всего распространена у пожилых пациентов. С возрастом увеличивается наличие и число сопутствующих заболеваний, таких как сердечная недостаточность, ИБС, нарушения проводящей системы сердца. Фибрилляция предсердий представляет собой проблему здравоохранения, которая преимущественно затрагивает развитые страны, где наблюдают высокие показатели распространенности заболеваемости. Данным заболеванием страдают более 33 млн человек во всем мире. Спектральный анализ вариабельности сердечного ритма используют для оценки эффективности лекарственной терапии. Применение этого метода дает представление о роли вегетативной нервной системы в регуляции хронотропной функции сердца. Такие сведения помогают определить условия проявления эффективности антиаритмических препаратов. В данном исследовании были изучены спектральные показатели у пациентов с различными формами фибрилляции предсердий и влияние на эти показатели антиаритмического препарата III класса амиодарона. Показано, что на фоне терапии амиодароном структура спектра вариабельности сердечного ритма у пациентов с впервые выявленной фибрилляцией значительно отличается от таковой у пациентов, имеющих длительность заболевания от 6 мес до нескольких лет.

Ключевые слова: пожилой и старческий возраст, спектральный анализ вариабельности ритма сердца, антиаритмические препараты III класса, амиодарон, фибрилляция предсердий

Одним из чаще всего встречающихся видов аритмии в клинической практике врача считают фибрилляцию предсердий (ФП). Данным заболеванием страдают более 33 млн человек во всем мире [8]. ФП больше распространена у пожилых пациентов. С возрастом увеличивается наличие и число сопутствующих заболеваний, таких как сердечная недостаточность, ИБС, нарушения проводящей системы сердца. ФП представляет собой глобальную проблему здравоохранения, которая преимущественно затрагивает развитые страны, где наблюдают высокие показатели распространенности заболеваемости [8]. Кроме того, распространенность заболевания прогрессивно увеличивается, и, согласно прогнозу, к 2030 г. будет более 50 млн пациентов с ФП по всему миру. В развивающихся странах из-за недостаточного уровня здравоохранения наблюдают большие сложности при диагностике самопроизвольно прекращающейся пароксизмальной ФП, особенно бессимптомных эпизодов ФП.

Распространенность ФП прогрессивно увеличивается с возрастом. Так, у лиц моложе 50 лет распространенность ФП составляет 0,1 %, а у лиц старше 80 лет достигает 10–18 %. Заболеваемость ФП выше у мужчин, чем у женщин, в соотношении 1,5:1. ФП часто ассоциируется с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями являются гипертензия, сердечная недостаточность, сахарный диабет и ожирение. Почти $^1/_3$ пациентов с ФП имеют не менее трех сопутствующих заболеваний [19]. Прогрессирование пароксизмальной формы ФП к постоянной представляет собой медленный, но непрерывный процесс длительностью около 5 лет, несмотря на соответствующее клиническое лечение, и часто связано с развитием основного заболевания сердечно-сосудистой системы, на фоне которого повышается нетрудоспособность и возрастает смертность. Половина пациентов с ФП, имеющих несколько сопутствующих заболеваний, устойчивы к антиаритмической терапии [13].

ФП считается одной из опасных форм в отличие от других видов наджелудочковой аритмии, так как может вызвать смерть пациента из-за тромбоэмболических осложнений [14]. ФП составляет около 2 % от общего количества случаев нарушений ритма и чаще встречается у пациентов старше 60 лет.

Принято считать, что в основе развития ФП лежит повторный вход волны возбуждения (re-entry) в функционально обусловленных структурах без «возбудимого промежутка». Выделяют три основных типа re-entry при ФП. Re-entry при ФП может носить характер «ведущего цикла», или «спиральной волны», либо быть связан с анизотропией миокарда предсердий. При «анизотропном» варианте re-entry может включать «возбудимый» промежуток в цепи циркулирующего возбуждения [18]. У пациентов с ФП одновременно может существовать несколько цепей re-entry по типу «ведущего цикла». Они могут влиять друг на друга, что приводит к постоянно изменяющейся картине на ЭКГ [18]. Другой особенностью циркуляции возбуждения при ФП, приводящей к постоянным изменениям, является то, что цепи re-entry сами по себе непрерывно изменяют свои размеры, конфигурацию и локализацию (random re-entry).

Показано, что в некоторых случаях в основе развития ФП может лежать триггерная активность вследствие нарушения функции автоматизма [12].

Спектральный анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР) при выборе лекарственного средства с успехом применяют при терапии аритмии и артериальной гипертензии, получая все большее распространение в экспериментальной и клинической практике. Данный метод благодаря проводимому математическому анализу временны́х и частотных характеристик ВСР позволяет получать представление о медленных колебательных процессах, которые постоянно существуют в организме и имеют свойства автоволн. Использование этого метода дает представление о роли различных систем регуляции организма — вегетативной нервной системы (симпатического и парасимпатического отделов), эндокринной и иммунной систем, а также реализации гуморальных механизмов в хронотропной функции сердца [3, 5, 7]. Существует значительное количество публикаций, в которых представлена возможность использования метода спектрального анализа ВСР в выборе терапии при артериальной гипертензии, сердечной недостаточности и нарушениях сердечного ритма [1, 17]. По сравнению с другими способами, этот метод отличается простотой и информативностью.

Материалы и методы

Изучены спектральные характеристики ВСР в группах пациентов с ФП. Исследование выполнено на базе ГКБ № 24, отделение кардиореанимации (Москва). В качестве антиаритмической терапии применяли амиодарон в дозе 600 мг в/в капельно. Обследованы 116 больных как с впервые выявленной ФП, так и имеющие давность заболевания от 6 мес до 8 лет (персистирующая форма). У всех пациентов в качестве сопутствующего заболевания отмечена артериальная гипертензия III степени, III стадии, риск 4. У пациентов выявлены также сопутствующие заболевания — ИБС и нарушения проведения и/или инфаркт миокард (ИМ) в анамнезе. Эти пациенты, наряду с антиаритмическими препаратами, получали соответствующую терапию. Пациенты были разделены на группы, представленные в *табл. 1*.

Всем пациентам проводили общеклинические, гематологические и биохимические исследования согласно стандартам. Были проведены также инструментальные исследования — рентгенография грудной клетки, эхо-КГ, ЭКГ.

ВСР изучали с помощью компьютерного комплекса «Astrocard» (Россия) в соответствии с требованиями рабочей группы Европейского общества

Таблица 1

Распределение пациентов с фибрилляцией предсердий по длительности заболевания и сопутствующей патологии на фоне терапии амиодароном, абс. число

Группа	Пациенты с впервые выявленной фибрилляцией предсердий, *n*=59	Пациенты с длительно протекающей фибрилляцией предсердий, *n*=57
Артериальная гипертензия	22	25
ИБС+ИМ+блокада проведения+сахарный диабет	11	–
ИБС+ИМ+сахарный диабет	12	–
ИБС+сахарный диабет	14	–
Блокада проведения	–	10
ИБС+ИМ	–	10
ИБС+ИМ+блокада проведения	–	12

кардиологов и Североамериканского общества стимуляции и электрофизиологии [17] на 5-минутных интервалах ЭКГ. Оценивали статистические, геометрические и спектральные показатели ВСР [1]:

• *NN* — средняя продолжительность сердечного цикла, мс (*NN* означает ряд нормальных интервалов «normaltonormal» с исключением экстрасистол);

• *SDNN* — стандартное отклонение сердечного цикла, мс; при коротких записях ЭКГ данный показатель оценивает короткие сердечные циклы;

• *HRV* — триангулярный индекс (величина, представляющая собой интеграл плотности распределения, то есть отношение общего числа *RR*-интервалов к их максимуму), характеризует общую вариабельность сердечных циклов;

• *TINN* — треугольная интерполяция гистограммы интервалов *NN*, представляет собой ширину основания треугольника, полученного при аппроксимации распределения *NN*-интервалов методом наименьших квадратов;

• *T* — общая мощность спектра колебаний интервалов *RR*, мс^2;

• *VLF* — мощность спектра интервалов *RR* в области очень низких частот 0,04–0,003 Гц (25–333 с), мс^2;

• *LF* — мощность спектра интервалов *RR* в области низких частот 0,15–0,04 Гц (6,5–25 с), мс^2;

• *HF* — мощность спектра интервалов *RR* в области высоких частот 0,4–0,15 Гц (2,5–6,5 с), мс^2;

• % *VLF* — процент колебаний очень низких частот в общей мощности спектра;

• % *LF* — процент колебаний низких частот в общей мощности спектра;

• % *HF* — процент колебаний высоких частот в общей мощности спектра;

LF/HF — симпатовагальный индекс, отражающий баланс симпатических и парасимпатических регуляторных влияний на сердце.

Исследование выполнено с соблюдением этических стандартов и одобрено локальным этическим комитетом Первого МГМУ им. И. М. Сеченова.

Результаты обрабатывали статистически методом дисперсионного анализа, достоверными считали результаты при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

В спектре сердечного ритма здорового человека, как свидетельствуют данные многочисленных исследований, преобладает мощность *VLF*, их доля составляет 60–70 % и превышает доли всех остальных составляющих спектра. Мощность *HF* (30–35 %) преобладает над *LF* (5–15 %). Коэффициент *LF/HF* равен 0,3–0,4 [4].

У пациентов с впервые выявленной ФП без сопутствующих заболеваний после введения амиодарона в структуре спектра преобладали *VLF*, их доля занимала более половины общей мощности, что свидетельствует о значительной роли гуморальных факторов в регуляции ЧСС. Мощность *LF*, отражающая активность симпатической нервной системы, преобладала над таковой *HF* в 2,6 раза. Таким образом, симпатическая нервная система оказывает преобладающее влияние на хронотропную функцию сердца на фоне терапии амиодароном (600 мг внутривенно капельно) у пациентов с впервые выявленной ФП (*табл. 2*).

У пациентов с персистирующей формой ФП и без сопутствующих заболеваний на фоне терапии амиодароном доля *VLF* была ниже аналогичного показателя в ранее указанной группе и не превышала половины от общей мощности спектра. При этом мощность *HF* значительно возрастала и превышала мощность *LF* в 1,5 раза. Следовательно, в этой группе пациентов преобладающая роль в регуляции деятельности сердца принадлежала блуждающему нерву.

При анализе геометрических показателей наблюдали подтверждение полученных при спектральном анализе данных. Триангулярный индекс у пациентов с персистирующей формой ФП достоверно превышал аналогичный показатель у пациентов с впервые выявленной ФП. Кроме того, частота сердечного ритма на фоне терапии амиодароном у пациентов с персистирующей формой ФП была достоверно меньше по сравнению с другой группой. Стандартное отклонение, отражающее разброс значений длины сердечного цикла и, соответственно, характеризующее вариабельность ритма сердца у пациентов с персистирующей формой ФП, было в 2 раза ниже, чем у пациентов с впервые развившейся ФП, что не совпадало со спектральными характеристиками указанных групп (см. табл. 2).

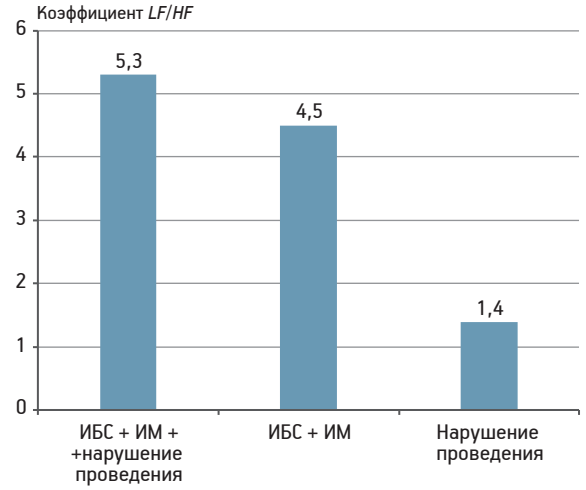
У пациентов с персистирующей формой ФП, страдающих ИБС и перенесших ИМ с нарушением проведения, на фоне терапии амиодароном наблюдали превышение мощности *LF* над *HF* в 5 раз, что свидетельствует о значительном возрастании роли симпатических влияний на деятельность сердца (*рисунок*).

У пациентов с ИБС и перенесенным ИМ без нарушения проведения, доля *LF* немного снижалась, что сопровождалось одновременным увеличением доли *VLF*. Доля *HF* не изменялась. Коэффициент *LF/HF* также уменьшался до 4,5.

Таблица 2

Спектральные показатели вариабельности сердечного ритма у пациентов с фибрилляцией предсердий без сопутствующих заболеваний на фоне терапии амиодароном

Показатель	Пациенты с впервые выявленной фибрилляцией предсердий				Пациенты с персистирующей формой фибрилляции предсердий			
Спектральные показатели вариабельности сердечного ритма								
	VLF, %	*LF*, %	*HF*, %	*LF/HF*	*VLF*, %	*LF*, %	*HF*, %	*LF/HF*
Среднее значение	77,43	15,69	6,88	2,65	49,16	19,9	30,94	0,67
Стандартное отклонение	7,8	4,8	3,86	0,89	10,43	5,63	7,48	0,2
p между группами					<0,05	0,0137	<0,05	<0,05
Статистические показатели вариабельности сердечного ритма								
	NN		*SDNN*		*NN*		*SDNN*	
Среднее значение	1016,56		53,25		1123,94		28,9	
Стандартное отклонение	139,62		14,38		137,56		10,8	
p между группами					0,0146		<0,05	
Геометрические показатели вариабельности сердечного ритма								
	TINN		*HRV*		*TINN*		*HRV*	
Среднее значение	177,08		0,10577		107,5		0,14	
Стандартное отклонение	74,19		0,0406		13,36		0,0196	
p между группами					0,0021		0,0089	



Изменение коэффициента LF/HF у пациентов с персистирующей фибрилляцией предсердий и сопутствующими заболеваниями на фоне терапии амиодароном

У пациентов, имеющих только нарушения проведения (без ИБС и ИМ), тенденция снижения активности симпатических влияний на сердце сохранялась. В этой группе мощность *HF* возрастала с одновременным уменьшением мощности *VLF*, доля *LF* также несколько увеличивалась. Коэффициент *LF/HF* составлял всего 1,4, что свидетельствует о небольшом преобладании симпатической активности в спектре ВСР у пациентов данной группы. Спектральные показатели ВСР у пациентов с персистирующей формой ФП вышеуказанных групп представлены в *табл. 3*.

Таким образом, уменьшение количества неблагоприятных факторов (ИМ, ИБС и нарушения проведения) у пациентов с персистирующей ФП сопровождалось снижением симпатических влияний на деятельность сердца.

У пациентов с впервые развившейся ФП на фоне ИБС и СД 2-го типа, перенесших ИМ и одновременно имеющих нарушения проведения, симпатические влияния также преобладали над парасимпатическими в 3,6 раза (см. табл. 2). Доля *VLF* значительно превышала доли остальных компонентов и составляла 69 %, что свидетельствует о важной роли гуморальных факторов в регуляции сердечного ритма у пациентов с СД 2-го типа. У пациентов, у которых снижалось число сопутствующих заболеваний, а именно отсутствовали нарушения проведения, доли *LF* и *HF* значительно возрастали с одновременным снижением доли *VLF*. Преобладание симпатических влияний сохранялось, но становилось невыраженным. Коэффициент *LF/HF* снижался и составлял всего 1,66. Тенденция к снижению активности симпатической нервной системы сохранялась у пациентов, имеющих в качестве сопутствующих заболеваний ИБС и СД 2-го типа. У них наблюдали преобладание влияния блуждающего нерва на сердце в 1,5 раза. Мощность *VLF* была значительно выше всех остальных составляющих спектра, доля *VLF* составляла 70 %. Таким образом, у данных пациентов значительную роль в регуляции хронотропной функции сердца играли гуморальные факторы. Снижение количества негативных факто-

Таблица 3

Спектральные показатели вариабельности сердечного ритма у пациентов с фибрилляцией предсердий и сопутствующими заболеваниями на фоне терапии амиодароном

Показатель	Пациенты с персистирующей формой фибрилляции предсердий				Пациенты с впервые выявленной фибрилляцией предсердий и сахарным диабетом			
	VLF, %	*LF*, %	*HF*, %	*LF/HF*	*VLF*, %	*LF*, %	*HF*, %	*LF/HF*
Пациенты с ИБС, перенесшие инфаркт миокарда с нарушением проведения								
Среднее значение	60,5	32,6	6,8	5,3	69,28	23,67	7,05	3,6
Стандартное отклонение	8,6	7,7	2,5	1,8	11,86	9,11	3,2	0,95
Пациенты с ИБС, перенесшие инфаркт миокарда без нарушения проведения								
Среднее значение	69,9	24,1	5,9	4,5	8,67	56,75	34,58	1,66
Стандартное отклонение	10,8	9,1	3,1	2,29	1,56	3,3	3,23	0,24
p между 1-й и 2-й группой	0,0013	0,0008	0,349	0,1405	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	Пациенты с нарушением проведения				*Пациенты с ИБС*			
Среднее значение	30,2	42,9	26,9	1,4	70,22	12,11	17,67	0,72
Стандартное отклонение	7,2	10,1	8,1	0,35	8,57	3,48	6,34	0,24
p между 1-й и 3-й группой	<0,05	0,0005	<0,05	<0,05	0,9699	<0,05	<0,05	<0,05
p между 2-й и 3-й группой	<0,05	<0,05	<0,05	0,0001	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

ров также сопровождалось возрастанием влияния блуждающего нерва на деятельность сердца.

Показано, что электрофизиологический механизм ФП заключается в циркуляции волны возбуждения, или re-entry [14, 18]. В последнее время установлена важная роль блуждающего нерва в возникновении ФП и, особенно, в ее поддержании [6, 15]. Вследствие выявленной важной роли вегетативной нервной системы в возникновении пароксизмальной формы ФП необходимо учитывать эти условия при лекарственной терапии [9]. Как показали исследования, приступы пароксизмальной ФП чаще возникают ночью, когда возрастает влияние блуждающего нерва на сердце [2]. Это не согласуется с общепринятым мнением о доминирующей роли симпатической нервной системы в развитии большинства сердечно-сосудистых заболеваний. Данное обстоятельство необходимо принимать во внимание при терапии и профилактике ФП.

В заключении Рабочей группы экспертов, занимающихся изучением механизмов аритмии и их медикаментозного лечения (Sicilian Gambit), рефрактерному периоду предсердий отведена роль «уязвимого» параметра при ФП [17]. Эксперты отмечают значимость дисперсии рефрактерности и нарушения проведения возбуждения по предсердиям в развитии ФП. Как было показано в экспериментальных исследованиях, укорочение эффективного рефрактерного периода предсердий может возникать при повышении тонуса как симпатического, так и парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. Однако повышение тонуса блуждающего нерва сопровождается возрастанием дисперсии рефрактерности, что и приводит к возникновению ФП. Удлинение эффективного рефрактерного периода предсердий с помощью антиаритмических препаратов III класса лежит в основе их эффективности при ФП.

Из вышесказанного следует, что лечение ФП в настоящее время является серьезной проблемой. Приведенные данные свидетельствуют о том, что наиболее предпочтительным является подбор антиаритмических препаратов с учетом индивидуальной клинической формы ФП и конкретных патогенетических факторов [10, 11, 16]. Для оценки состояния вегетативной нервной системы и ее роли в регуляции деятельности сердца, несомненно, будет весьма полезно использование спектрального анализа ВСР.

Заключение

У пациентов пожилого и старческого возраста с фибрилляцией предсердий на фоне терапии амиодароном наблюдали различное изменение спектральных показателей вариабельности сердечного ритма. У пациентов с персистирующей формой фибрилляции предсердий в структуре спектра вариабельности сердечного ритма мощность быстрых частот превышала таковую медленных, что свидетельствует о преимущественном влиянии блуждающего нерва на миокард. У пациентов с впервые выявленной фибрилляцией предсердий амиодарон, наоборот, вызывал повышение симпатической активности в отличие от пациентов с персистирующей формой фибрилляции предсердий, кроме того, в названной группе значительная роль принадлежала нейрогуморальным механизмам.

Было установлено, что наличие у пациентов обеих групп ИБС, инфаркта миокарда (в анамнезе), а также нарушения проведения сопровождалось увеличением симпатической активности, причем чем больше присутствовало негативных факторов, тем сильнее было влияние симпатической нервной системы.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ГКБ № 24 (Москва). Финансирование исследования бюджетное.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Баевский Р.М., Иванов И.И., Чирейкин Л.В.* и др. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) // Вестн. аритмол. 2001. № 24. С. 65–87.

2. *Искендеров Б.Г., Рахматуллов Ф.К.* Структурные и электрофизиологические показатели функции сердца при пароксизмальной мерцательной аритмии // Тер. арх. 2001. № 12. С. 52–56.

3. *Кринский В.И., Михайлов А.С.* Автоволны. М.: Знание, 1984.

4. *Флейшман А.Н., Филимонов С.Н., Климина Н.В.* Новый способ подбора препаратов для лечения артериальной гипертонии на основе спектрального анализа вариабельности ритма сердца // Тер. арх. 2001. № 12. С. 33–39.

5. *Явелов И.С., Грацианский Н.А., Зуйков Ю.А.* Вариабельность ритма сердца при острых коронарных синдромах: значение для оценки прогноза заболевания: обзор // Кардиология. 1997. № 2. С. 61–69.

6. *Akselrod S.* Components of heart rate variability. Basis studies // In: Heart Rate Variability / Ed. by M. Malik, A. J. Camm. Armonk. N.-Y. Futura Pablishity, Comp. Inc, 1995. P. 147–163.

7. *Akselrod S., Gordon D., Madwed J.B. et al.* Hemodynamic regulation: Investigation by spectral analysis // Amer. J. Physiol. 1985. Vol. 249. P. 867–875.

8. *Chugh S.S., Havmoeller R., Narayanan K. et al.* Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a global burden of disease 2010 study // Circulation. 2014. Vol. 129. P. 837–847.

9. *Gal P., Elvan A., Rossi P. et al.* Effect of parasympathetic nerve stimulation on atrial and atrioventricular nodal electrophysiological characteristics // Int. J. Cardiol. 2016. Vol. 205. P. 83–85.

10. *Hanley C.M., Robinson V.M., Peter R. Kowey P.R.* Status of Antiarrhythmic Drug Development for Atrial Fibrillation. New Drugs and New Molecular Mechanisms // Circ. Arrhythm. Electrophysiol. 2016. Vol. 9. P. 1–9.

11. *Hohendanner F., Heinzel F.R., Blaschke F. et al.* Pathophysiological and therapeutic implications in patients with atrial fibrillation and heart failure // Heart Fail. Rev. 2018. Vol. 23. P. 27–36.

12. *Jaïs P., Haïssaguerre M., Shah D.C. et al.* A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation // Circulation. 1997. Vol. 95. P. 572–576.

13. *Kirchhof P., Ammentorp B., Darius H. et al.* Management of atrial fibrillation in seven European countries after the publication of the 2010 ESC guidelines on atrial fibrillation: primary results of the Prevention of thromboemolic events—European Registry in Atrial Fibrillation (PREFER in AF) // Europace. 2014. Vol. 16. P. 6–14.

14. *Kirchhof P.,Breithardt G., Bax J. et al.* A roadmap to improve the quality of atrial fibrillation management: proceedings from the fifth Atrial Fibrillation Network. European Heart Rhythm Association consensus conference // Europace. 2016. Vol. 18. P. 37–50.

15. *Lok N.S., Lau C.P.* Abnormal vasovagal reaction, autonomic function, and heart rate variability in patients with paroxysmal atrial fibrillation // Pacing Clin. Electrophysiol. 1998. Vol. 21. P. 386–395.

16. *Patel P.A., Ali N., Hogarth A., Tayebjee M.H.* Management strategies for atrial fibrillation // J. R. Soc. Med. 2017. Vol. 110. P. 13–22.

17. *Task Forse* of the European Society of Cardiology and the North American Society of Paciety of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability. Standarts of measurements, physiological interpretation and clinical use // Circulation. 1996. Vol. 93. P. 1043–1065.

18. *Wang Z., Page P., Nattel S.* Mechanism of flecainide's antiarrhythmic action in experimental atrial fibrillation // Circ. Res. 1992. Vol. 71. P. 271–287.

19. *Wyse D.G., Van Gelder I.C., Ellinor P.T. et al.* Lone atrial fibrillation: does it exist? // J. Amer. Coll. Cardiol. 2014. Vol. 63. P. 1715–1723.

Поступила в редакцию 20.06.2019
После доработки 17.07.2019
Принята к публикации 26.07.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1011–1016

E. P. Popova[1], *O. T. Bogova*[2], *S. A. Chandirli*[2], *S. N. Puzin*[1, 2, 3], *D. A. Sychev*[2], *V. P. Fisenko*[1]

INFLUENCE OF AMIODARONE ON THE SPECTRAL ANALYSIS OF HEART RATE VARIABILITY IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION ELDERLY AND SENILE AGE

[1] I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 2 build. 4 Bolshaya Pirogovskaya str., Moscow 119991, e-mail: kispo-pharm@mail.ru;[2] Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 2/1 build. 1 Barrikadnaya str., Moscow 125993; [3] Federal scientific-clinical center of emergency medicine and rehabilitation, 777 d. Lytkino, Solnechnogoskiy distr., Moscow region 141534

Atrial fibrillation is more common among elderly patients. Number of comorbidities, such as heart failure, coronary heart disease, disorders of the conduction system of the heart increases with age. Atrial fibrillation is a health problem. In developed countries, there is a high prevalence of the disease. The disease affects more than 33 million people worldwide. Spectral analysis of heart rate variability can be successfully used to evaluate the effectiveness of therapy. The use of this method gives an idea of the role of the autonomic nervous system in the regulation of chronotropic function of the heart. These data help to define conditions of manifestation of efficiency of antiarrhythmic drugs. In this study, spectral analysis were studied in patients with different forms of atrial fibrillation. The effect of amiodarone class III antiarrhythmic drug were studied this study. It is shown that the structure of spectrum of heart rate variability in patients with newly diagnosed atrial fibrillation differs significantly from that in patients with disease duration from 6 months to several years on the background of amiodarone.

Key words: *elderly and senile patients, spectral analysis of heart rate variability, class III antiarrhythmic drugs, amiodarone, atrial fibrillation*

© А. В. Деркач, С. В. Трофимова, 2019
УДК 617.735.156-08-053.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1017–1022

А. В. Деркач, С. В. Трофимова

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ПИГМЕНТНОГО РЕТИНИТА У ПАЦИЕНТОВ СТАРШЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3,
e-mail: dr.derkach.a@gmail.com

Пигментный ретинит — наследственное дегенеративное заболевание сетчатки, зачастую протекающее в тяжелой форме и поражающее пигментный эпителий сетчатки и слой фоторецепторов. Для старшей возрастной группы заболевание усугубляется присоединением возрастных дегенеративных процессов в сетчатке. Из-за многообразия факторов развития и форм пигментного ретинита не существует единой концепции лечения заболевания. Использование генной терапии и оптогенетического метода на данный момент невозможно, поскольку они находятся на стадии экспериментальных исследований. Для пациентов с терминальной стадией пигментного ретинита возможна имплантация бионического глаза — устройства с возможностью восстановления остаточного зрения. Основным методом лечения остается терапевтический. Было проведено множество экспериментальных и клинических исследований различных препаратов, эффективность которых разнится. Активно применяются пептидные биорегуляторы, поддерживающие структурный и функциональный гомеостаз клеточных популяций и обладающие ретинопротекторным свойством. Особенно важным представляется возможность также улучшить соматическое состояние пациента за счет применения пептидных препаратов в комплексе.

Ключевые слова: пигментный ретинит, сетчатка, пептидные биорегуляторы, бионический глаз, оптогенетика, генная терапия

При рождении число фоторецепторов составляет около 6–7 млн для колбочек и 110–125 млн для палочек. Однако с возрастом их количество уменьшается вследствие возрастных дегенеративных процессов, что усугубляет течение многих ретинальных заболеваний, в том числе и пигментного ретинита у пациентов старшей возрастной группы.

Пигментный ретинит (ПР) является наследственным дегенеративным заболеванием сетчатки с частотой встречаемости 1:5000, которое приводит к слепоте с первичным поражением пигментного эпителия сетчатки и слоя фоторецепторов [38]. Патогенетическое лечение данной патологии отсутствует вследствие многообразия факторов, играющих роль в его развитии и прогрессировании, а также из-за обилия форм заболевания в зависимости от типа наследования и генов с мутациями в них.

В последние годы активно ведутся работы по генной терапии ПР [10]. Было проведено экспериментальное исследование на крысах с доминантной мутацией в гене родопсина (*Rho*). Выяснено, что с помощью системы *CRISPR/Cas*9, способной вносить направленный ДНК-разрыв в направляющую молекулу РНК, возможно «выключение» мутантного аллеля гена родопсина с дальнейшим предотвращением дегенерации сетчатки и улучшением зрительных функций [23]. Также было изучено, может ли *CRISPR/Cas*9 использоваться в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках конкретного пациента, чтобы исправить мутацию гена *RPGR*, обусловливающую ПР с *X*-сцепленным типом наследования. В результате исследования 13 % копий гена *RPGR* показали коррекцию мутаций и превращение в аллель дикого типа [24].

Существует множество исследований терапевтического потенциала различных типов стволовых клеток. Например, мезенхимальные стволовые клетки-предшественники (*MSCs*) продемонстрировали преимущества благодаря возможности дифференцировки по нескольким линиям, легкости их культивирования *in vitro*, их иммуномодулирующим свойствам и, наконец, их способности синтезировать и секретировать полученные из мембран везикулы, богатые факторами роста, мРНК и микроРНК, которые, возможно, помогают в регуляции регенерации поврежденных тканей [30].

Так, исследования показали, что мезенхимальные стволовые клетки-предшественники способны дифференцироваться в клетки сетчатки и заменять повреждённые участки при определенных услови-

ях [47]. Более того, это возможно без использования дополнительных факторов с помощью участия антисмысловой микроРНК-410 (*anti-miR*-410) из амниотических эпителиальных стволовых клеток (*AESCs*), которая напрямую регулирует гены-мишени *OTX2* и *RPE65*, поврежденные при ПР [27].

В то же время выделяют оптогенетический подход, обусловленный тем, что потеря фоторецепторов при ПР, как правило, не сопровождается потерей следующих слоев клеток, во всяком случае ганглиозных клеток [3]. Это позволяет восстановить рецептивные *ON*- и *OFF*-поля ганглиозных клеток сетчатки с помощью светоактивируемого белка, ген которого экспрессируется в определенной клетке сетчатки. После доставки генов белка в клетку рекомбинантными аденоассоциированными вирусами (*rAAV*) [50] белок способен активировать или тормозить физиологическую активность клетки посредством света [17]. Данные методы находятся на стадии экспериментальных исследований, поэтому в клинической практике не используются.

Для пациентов с тяжелой формой ПР, повлекшей за собой слепоту, был разработан бионический глаз — имплантируемое бионическое устройство с возможностью восстановления остаточного зрения [8, 42]. В настоящее время клинически доступны два устройства, получивших европейскую маркировку CE: устройство «Argus II» («Second Sight Medical Products», США) одобрено в 2011 г., «Alpha IMS» («Retina Implant AG», Германия) — в середине 2013 г. В начале 2013 г. «Argus II» также было одобрено и FDA.

Система протезирования сетчатки «Argus II» относится к классическим протезам и содержит камеру для захвата изображения, процессор для его преобразования в электрические сигналы и электроды для стимуляции зрительных путей нейронов. Несколько слепых пациентов, оснащенных системой «Argus II», смогли последовательно идентифицировать буквы и слова [32]. Устройство успешно имплантируется по всему миру, а опыт российских хирургов указывает на необходимость единовременной имплантации ретинального протеза, экстракции хрусталика с имплантацией интраокулярной линзы и субтотальной витрэктомии [11].

Устройство «Alpha IMS» относится к оптическим сенсорным протезам и имплантируется между пигментным эпителием сетчатки и нейросенсорной сетчаткой. Система состоит из микрофотодиодной матрицы, способной преобразовывать свет в электрические импульсы для непосредственной стимуляции ганглиозных клеток сетчатки. Клинические исследования показали, что зрительные функции позволяли пациентам не только воспринимать фосфены, но в ряде случаев читать большие буквы и распознавать разрыв в кольцах Ландольта [45, 46].

Другие устройства [«Bionic Vision Australia», «Pixium Vision's IRIS-I», «Epi-Ret 3», «Intelligent Medical Implants» (IMI)] находятся на этапе клинических испытаний, за исключением «Boston Retinal Implant», проходящего экспериментальные исследования на животных [22, 26, 28, 29].

Основным подходом к лечению ПР в клинической практике остается терапевтический. Так как в патогенезе ПР важную роль играет нарушение мозгового и ретинального кровообращения, в качестве компонента лечения активно используют сосудорасширяющие препараты, однако на данный момент изучено множество дополнительных возможностей.

Примером таких научных работ является исследование доктора Campociaro и соавт. Они подтвердили положительный эффект *N*-ацетилцистеина на состояние сетчатки при ПР в рамках экспериментального исследования [37].

Существует методика лечения ПР путем ретробульбарного введения набора ферментов, включающего глутатионпероксидазу, пролидазу, глюкоза-6-фосфатдегидрогеназу и, необязательно, альдозаредуктазу. Экспериментальные данные подтвердили гипотезу о том, что при ПР в сетчатке содержится недостаточное количество ферментов. Вследствие этого метаболизм сетчатки изменяется, что влияет не только на зрительный процесс, но и на количество пигмента [39].

Изучено применение нового соединения, относящегося к сложному эфиру ретинила из группы сложных эфиров 9-цис-ретинила и 11-цис-ретинила. Восстановление фоторецепторной функции с формированием функционального комплекса опсин/ретиналь происходит благодаря введению производного ретиналя в качестве активного ингредиента [7]. Положительную динамику у пациентов с ПР давала интравитреальная инъекция аутологичных клеток костного мозга, но только на 3 мес [44].

По данным 19 рандомизированных клинических исследований, включающих использование гипербарической оксигенации, бримонидина тартрата, витаминов, витамина *A* и/или докозагексаеновой кислоты (ω-3 полиненасыщенная жирная

кислота) [35, 40], ганглиозидов, лютеина, перорального нилвадипина, цилиарного нейротрофического фактора, методы лечения безопасны, однако не оказывают достоверной эффективности восстановления зрительных функций [41, 49]. Трудно обосновать использование и ацетазоламида у пациентов с ПР без признаков кистозного макулярного отека [34]. Результаты плацебо-контролируемого клинического исследования по лечению ПР вальпроевой кислотой, опубликованные в августе 2018 г., свидетельствуют о получении худших результатов, чем у группы плацебо [25, 31].

Установлено достоверное положительное влияние препарата «Дезоксинат» (вытяжка из молоки осетровых рыб) на функциональное состояние сетчатки у 80—94 % больных пигментной абиотрофией сетчатки различных стадий [9]. Подтвержден положительный терапевтический эффект 0,15 % изопропила унопростона, метаболизированной формы простагландина *F*2 , на «макулярную чувствительность» [21, 51].

Транскорнеальная электростимуляция применяется редко из-за отсутствия статистически достоверных улучшений показателей ЭРГ и полей зрения [43], в то время как воздействие электростимуляции через закрытые веки в сочетании с дедистрофическим лечением между курсами оказывает положительный эффект на состояние сетчатки при ПР [20].

Перспективным и активно применяющимся методом лечения ретинальной патологии является использование пептидных биорегуляторов.

С возрастом происходит снижение синтеза и секреции регуляторных пептидов, а также ослабление чувствительности к ним клеток-мишеней. В. Г. Морозов и В. Х. Хавинсон разработали и применили оригинальную методику выделения низкомолекулярных пептидов из органов и тканей крупного рогатого скота, обладающих высокой тканеспецифичностью. Авторы сформулировали положение о пептидной биорегуляции с участием эндогенных пептидных биорегуляторов в поддержании структурного и функционального гомеостаза клеточных популяций. Таким образом, пептиды способны активировать экспрессию маркеров дифференцировки клеток посредством связывания с промоторными зонами генов, что требуется для развития, взаимодействия и функционирования клеток [16, 18].

Первый пептидный препарат (Ретиналамин) был создан еще 30 лет назад в ВМА им. С. М. Кирова. Он обладает ретинопротекторным свойством и на сегодняшний день широко используется для лечения различных патологий сетчатки [4, 12].

Важно упомянуть, что была разработана технология синтеза из аминокислот новой группы биорегуляторов — цитогенов. На основе аминокислотного анализа Ретиналамина было синтезировано несколько коротких пептидов с мощным ретинопротекторным действием (*Ala-Glu-Asp-Gly*, *Lys-Glu* и др.).

Высокая эффективность применения Ретиналамина доказана экспериментально на крысах линии *Campbell*, страдающих генетически детерминированной пигментной дегенерацией сетчатки, которая развивается с 20-го дня после рождения. Результаты проведенных исследований подтверждают ретинопротекторную активность пептидов, что выражается в увеличении функциональной активности сетчатки в 2,8 раза по данным электроретинограммы, а также в двукратном удлинении периода сохранения морфологической структуры сетчатки у крыс основной группы по сравнению с контрольной. Таким образом, пептиды сетчатки способны приостанавливать генетически запрограммированную гибель клеток пигментного эпителия сетчатки, запускать регенеративные процессы нейрорецепторного аппарата, а также способствовать восстановлению его функции [48].

Описание основного механизма действия пептидных ретинопротекторов дают результаты экспериментальных исследований. Известно, что сетчатка содержит до 30 % недифференцированных клеток (*stems cells*), а многолетний опыт изучения и применения пептидных биорегуляторов показал, что они действуют по строго специфической индукционной активности. Во время исследования индукционной активности пептидов сетчатки на клетки полипотентной ткани эктодермы ранней гаструлы *Xenopus Laevis* было выявлено, что данные препараты обладают нейральной индукционной активностью, в то время как другие биорегуляторы обладают, например, мезодермальной активностью. Путем воздействия пептидов сетчатки на недифференцированную ткань активируется нейральная дифференцировка с последующим возникновением нейральных клеток сетчатки и пигментного эпителия. Это один из механизмов действия пептидов сетчатки, который объясняет благодаря чему в клинической практике удается повысить зрительные функции у пациентов офтальмологического профиля.

Клинически была подтверждена способность Ретиналамина тормозить развитие дистрофических изменений сетчатки, позволяя не только стабилизировать патологический процесс, но и значительно улучшить клиническое течение заболевания у пациентов любого возраста [1, 14]. Установлено, что в результате лечения отмечается повышение остроты зрения, расширение границ поля зрения, уменьшение количества скотом, повышение порогов световой чувствительности, улучшение цветоощущения. При этом стимулирующее воздействие данного вещества на сетчатку выражалось также в зарегистрированном при помощи электроретинограммы увеличении амплитуды *b*-волны почти в 2 раза по сравнению с контрольной группой.

Кроме улучшения показателей зрительных функций, применение пептидов сетчатки оказывает неспецифическое влияние на иммунный статус, нормализующее влияние на коагуляцию крови и обладает выраженным протекторным свойством в отношении сосудистого эндотелия.

Важным является то, что при лечении пептидными биорегуляторами больных ПР не было выявлено побочных реакций, осложнений или лекарственной зависимости, включая лиц с неблагоприятным аллергологическим анамнезом [2].

В составе комплексного лечения ПР применяют также Кортексин — комплекс пептидов, выделенный из коры головного мозга животных. Данный препарат участвует в регуляции процессов метаболизма в головном мозге, избирательно действуя на его клетки, воздействует на волокна зрительного нерва и нейроны сетчатки, запуская механизмы саморегуляции в них, поэтому применение Кортексина при ПР патогенетически оправдано [5].

В комплекс лечения пептидными биорегуляторами также включен препарат «Эпиталамин», выделенный из эпифиза мозга животных. Он регулирует метаболизм в эпифизе путем повышения чувствительности гипоталамуса к эндогенным воздействиям, нормализации функции передней доли гипофиза и повышения чувствительность тканей к эндогенному инсулину. Также Эпиталамин способствует нейтрализации образующихся в процессе свободнорадикального окисления высокотоксичных гидроксильных и пероксильных радикалов за счет повышения активности СОД и церулоплазмина [6]. Таким образом, препарат повышает активность антиокислительной системы крови, включая ферменты антиоксидантной защиты [13, 15].

Тридцатилетний положительный опыт использования пептидных биорегуляторов при лечении ПР на территории РФ подтверждает опыт коллег из Греции. Они проводили исследования в Афинах на базе офтальмологического госпиталя «ОММА» в течение 4 лет. Применение препаратов у пациентов с ПР различных стадий позволило достичь не только стабилизации патологического процесса, но и повышения зрительных функций, улучшающихся с каждым курсом терапии, расширения полей зрения. Клинический эффект подтвердило улучшение показателей электроретинограммы даже у пациентов с терминальной стадией ПР [33].

Таким образом, физиологический эффект пептидных биорегуляторов заключается в их способности восстанавливать функциональную активность сетчатки глаза у пациентов с ПР и на моделях животных с данной патологией [19, 36].

На основании тридцатилетнего опыта применения пептидных биорегуляторов в клинической офтальмологии можно утверждать, что регулярное использование пептидов при лечении ретинальных заболеваний, в том числе ПР, позволяет замедлить прогрессирование патологического процесса и сохранить зрение пациенту еще на 10—15 лет. Более того, у 80 % пациентов удается улучшить зрительные функции за счет повышения остроты зрения, расширения поля зрения и улучшения картины глазного дна.

Заключение

На сегодняшний день изучено большое количество методов лечения пигментного ретинита, однако значительная их часть находится на стадии экспериментальных исследований. Хирургические методы лечения применяют у пациентов с терминальной стадией заболевания, вместе с тем, их использование затруднительно у пациентов старшей возрастной группы из-за соматического состояния.

Безусловным преимуществом обладают пептидные биорегуляторы, совокупное применение которых позволяет не только стабилизировать патологический процесс в сетчатке, но и улучшить общее состояние пациентов за счет нормализации углеводного обмена, иммунного статуса, показателей антиоксидантной активности крови, что особенно актуально для пациентов старшей возрастной группы.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Васильева Л.А., Даниличев В.Ф., Хавинсон В.Х. Применение ретилина (ретиналамина) для лечения периферической пигментной абиотрофии сетчатки // Офтальмол. журн. 2000. № 5. С. 14–17.

2. Даниличев В.Ф., Васильева Л.А. Терапия препаратом сетчатки при пигментной периферической абиотрофии сетчатки // В кн.: Пептидные биорегуляторы-цитомедины. СПб.: КОСТА, 1992.

3. Кирпичников М.П., Островский М.А. Оптогенетика и протезирование дегенеративной сетчатки // Вестн. офтальмол. 2015. Т. 131. № 3. С. 99–111.

4. Максимов И.Б., Нероев В.В., Алексеев В.Н. и др. Применение препарата ретиналамин в офтальмологии: Пособие для врачей. СПб.: ИКФ «Фолиант», 2002.

5. Максимов И.Б., Мошетова Л.К., Нероев В.В., Хавинсон В.Х. Пептидные препараты в современной клинической офтальмологии // Рос. мед. вести. 2003. Т. VII. № 2. С. 7–21.

6. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). СПб.: Наука, 1996.

7. Патент 2408578 РФ. Производные ретиналя и способы их применения для лечения нарушений зрения: Палчевски К., Баттен М. 2007101735/04, заявлено 20.06.2005. Опубл. 27.07.2008, Бюл. № 21.

8. Персиянова А.В. Бионический глаз // Будущее науки. 2016. Т. 2. С. 383–386.

9. Цапенко И.В., Рябина М.В., Зуева М.В. и др. Динамика биоэлектрической активности сетчатки у больных с пигментной абиотрофией при лечении препаратом «Дезоксинат» // Вестн. офтальмол. 1999. Т. 115. № 4. С. 24–26.

10. Смирнов А.В., Юнусова А.М., Лукьянчикова В.А., Баттулин Н.Р. Система CRISPR/Cas9 — универсальный инструмент геномной инженерии // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 4. С. 493–510.

11. Тахчиди Х.П., Качалина Г.Ф., Тахчиди Н.Х. и др. Клинико-функциональные результаты раннего послеоперационного периода у пациента с пигментным ретинитом после хирургической имплантации эпиретинального протеза Argus II // Соврем. технол. в офтальмологии. 2018. № 1. С. 346–349.

12. Трофимова С.В., Хавинсон В.Х. Сетчатка и старение // Успехи геронтол. 2002. № 9. С. 79–82.

13. Трофимова С.В., Фихман О.З. Биорегулирующая терапия и качество жизни людей старшего поколения с нарушением функции зрения. СПб.: Falcon Crest, 2008.

14. Трофимова С.В., Нероев В.В. Влияние ретиналамина на течение пигментной дегенерации сетчатки у лиц пожилого и старческого возраста // В сб.: Геронтология и гериатрия. 2004. № 3. С. 188–191.

15. Трофимова С.В., Максимов И.Б., Нероев В.В. Регуляторное действие пептидов сетчатки. СПб.: Фолиант, 2004.

16. Трофимова С.В., Горбунов А.В., Проняева В.Е., Дьяконов М.М. Роль мелатонина в развитии патологии сетчатки у пациентов старшей возрастной группы // Успехи геронтол. 2012. Т. 25. № 2. С. 239–243.

17. *Фирсов М.Л.* Перспективы оптогенетического протезирования сетчатки // Журн. высш. нервн. деят. 2017. Т. 67. № 5. С. 53–62.

18. Хавинсон В.Х., Земчихина В.Н., Трофимова С.В., Малинин В.В. Влияние пептидов на пролиферативную активность клеток сетчатки и пигментного эпителия // Бюл. экспер. мед. 2003. Т. 135. № 6. С. 700–702.

19. Хавинсон В.Х., Проняева В.Е., Линькова Н.С. и др. Молекулярные аспекты пептидной регуляции функций сетчатки при пигментном ретините // Физиология человека. 2014. Т. 40. № 1. С. 129–134.

20. Шандурина А.Н., Андреева С.Б., Фонарева Е.И. Динамика амплитуды волны «b» в общей электроретинограмме у пациентов с периферическими и смешанными формами тапеторетинальной абиотрофии при лечении методом электростимуляции // Офтальмол. ведомости. 2008. Т. 1. № 2. С. 16–19.

21. Akiyama M., Ikeda Y., Yoshida N. et al. Therapeutic efficacy of topical unoprostone isopropyl in retinitis pigmentosa // Acta Ophthalmol. 2014. Vol. 92. № 3. P. 229–234.

22. Ayton L.N., Blamey P.J., Guymer R.H. et al. First-in-Human Trial of a Novel Suprachoroidal Retinal Prosthesis // PLoS One. 2014. Vol. 9. № 12. doi: 10.1371/journal.pone.0115239

23. Bakondi B., Lv W., Lu B. et al. In Vivo CRISPR/Cas9 Gene Editing Corrects Retinal Dystrophy in the S334ter-3 Rat Model of Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa // Molec. Ther. 2016. Vol. 24. № 3. P. 556–563.

24. Bassuk A.G., Zheng A., Li Y. et al. Precision Medicine: Genetic Repair of Retinitis Pigmentosa in Patient-Derived Stem Cells // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. doi: 10.1038/srep19969

25. Birch D.G., Bernstein P.S., Iannacone A. et al. Effect of Oral Valproic Acid vs Placebo for Vision Loss in Patients With Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa: A Randomized Phase 2 Multicenter Placebo-Controlled Clinical Trial // J.A.M.A. Ophthalmol. 2018. Vol. 136. № 8. P. 849–856.

26. Brandli A., Luu C., Guymer R., Ayton L. Progress in the clinical development and utilization of vision prostheses: an update // Eye Brain. 2016. Vol. 8. P. 15–25.

27. Choi S., Kim J., Seo M. et al. Inhibition by miR-410 facilitates direct retinal pigment epithelium differentiation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells // J. Veterinary Sci. 2017. Vol. 18. № 1. P. 59–65.

28. Chow A.Y., Chow V.Y., Packo K.H. et al. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa // Arch. Ophthalmol. 2004. Vol. 122. № 4. P. 460–469.

29. Chuang A.T., Margo C.E., Greenberg P.B. Retinal implants: a systematic review // Brit. J. Ophthalmol. 2014. Vol. 98. № 7. P. 852–856.

30. Cislo-Pakuluk A., Marycz K. A Promising Tool in Retina Regeneration: Current Perspectives and Challenges When Using Mesenchymal Progenitor Stem Cells in Veterinary and Human Ophthalmological Applications // Stem. Cell. Rev. Rep. 2017. Vol. 13. № 5. P. 598–602.

31. Clemson C.M., Tzekov R., Krebs M. et al. Therapeutic potential of valproic acid for retinitis pigmentosa // Brit. J. Ophthalmol. 2011. Vol. 95. № 1. P. 89–93.

32. Da Cruz L., Coley B.F., Dorn J. et al. The Argus II epiretinal prosthesis system allows letter and word reading and long-term function in patients with profound vision loss // Brit. J. Ophthalmol. 2013. Vol. 97. P. 632–636.

33. Datseris Y., Trofimova S., Diamanti R., Khavinson V. Clinical Application of Peptide Bioregulators in Pathological Treatment of Retinitis Pigmentosa // In: Experts` opinion on current approaches in anti-ageing medicine and gerontology. Geneva, Switzerland, 2017. P. 30–34.

34. Greenstein V.C., Holopigian K., Siderides E. et al. The effects of acetazolamide on visual function in retinitis pigmentosa // Invest. Ophthalmol Vis. Sci. 1993. Vol. 34. № 1. P. 269–273.

35. Hoffman D.R., Hughbanks-Wheaton D.K., Pearson N.S. et al. Four-year placebo-controlled trial of docosahexaenoic acid in X-linked retinitis pigmentosa (DHAX trial): a randomized clinical trial // J.A.M.A. Ophthalmol. 2014. Vol. 132. № 7. P. 866–873.

36. Khavinson V., Razumovsky M., Trofimova S. et al. Pineal-regulating tetrapeptide epitalon improves eye retina condition in retinitis pigmentosa // Neuroendocr. Lett. 2002. Vol. 23. № 4. P. 365–368.

37. Lee S.Y., Usui S., Zafar A.B. et al. N-Acetylcysteine promotes long-term survival of cones in a model of retinitis pigmentosa // J. Cell Physiol. 2011. Vol. 226. № 7. P. 1843–1849.

38. Newsome D.A. Retinal dystrophies and degenerations. N.Y.: Raven Press, 1988. P. 161–194.

39. Pat. WO2004030693A1. Enzymatic treatment of retinitis pigmentosa and relevant pharmaceutical composition therefor in form of a kit: P.Ammannati, R.Giordani. PCT/IT2002/000624. Fill. 01.10.2002. Publ. 15.04.2004. European Patent Bulletin.

40. *Rayapudi S., Schwartz S.G., Wang X. et al.* Vitamin A and fish oils for retinitis pigmentosa // Cochrane Database Syst. Rev. 2013. Vol. 19. № 12. doi: 10.1002/14651858.CD008428.pub2

41. Sacchetti M., Mantelli F., Merlo D., Lambiase A. Systematic Review of Randomized Clinical Trials on Safety and Efficacy of Pharmacological and Nonpharmacological Treatments for Retinitis Pigmentosa // J. Ophthalmol. 2015. Vol. 5. doi: 10.1155/2015/737053

42. Sachs H.G. Transchoroidal subretinal chip implantation in blind retinitis pigmentosa patients. The choroidal challenge // Rus. Ophthalmol. J. 2016. Vol. 9. № 2. P. 27–32 (In Russ.).

43. Schatz A., Pach J., Gosheva M. et al. Transcorneal Electrical Stimulation for Patients With Retinitis Pigmentosa: A Prospective, Randomized, Sham-Controlled Follow-up Study Over 1 Year // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2017. Vol. 58. № 1. P. 257–269.

44. Siqueira R.C., Messias A., Messias K. et al. Quality of life in patients with retinitis pigmentosa submitted to intravitreal use of bone marrow-derived stem cells (Reticell -clinical trial) // Stem Cell Res. Ther. 2015. Vol. 6. № 1. P. 29–34.

45. Stingl K., Bartz-Schmidt K.U., Besch D. et al. Artificial vision with wirelessly powered subretinal electronic implant alpha-IMS // Proc. biol. Sci. 2013. Vol. 280. № 1757. doi: 10.1098/rspb.2013.0077

46. Stingl K., Bartz-Schmidt K.U., Besch D. et al. Subretinal visual implant alpha IMS – clinical trial interim report // Vision Res. 2015. Vol. 111. Part B. P. 149–160.

47. Tomita M., Adachi Y., Yamada H. et al. Bone Marrow-Derived Stem Cells Can Differentiate into Retinal Cells in Injured Rat Retina // Stem Cells. 2002. Vol. 20. № 4. P. 279–283.

48. Trofimova S., Khavinson V., Razumovsky M. The study of retinoprotective effect of synthetic retinal peptide on experimental model of retinitis pigmentosa in Cambell rets // Asian Ophthalmol. 2007. Vol. 9. № 1. Suppl. 1. P. 102–103.

49. Vingolo E.M., Rocco M., Grenga P. et al. Slowing the degenerative process, long lasting effect of hyperbaric oxygen therapy in retinitis pigmentosa // Graefes. Arch. clin. exp. Ophthalmol. 2008. Vol. 246. № 1. P. 93–98.

50. Wu Ch., Ivanova E., Zhang Y., Pan Zh.-H. rAAV-Mediated Subcellular Targeting of Optogenetic Tools in Retinal Ganglion Cells In Vivo // PLoS One. 2013. Vol. 8. № 6. doi: 10.1371/journal.pone.0066332

51. Yamamoto Sh., Sugawara T., Murakami A. et al. Topical Isopropyl Unoprostone for Retinitis Pigmentosa: Microperimetric Results of the Phase 2 Clinical Study // Ophthalmol. Ther. 2012. Vol. 1. № 1. doi: 10.1007/s40123-012-0005-9

Поступила в редакцию 11.02.2019
После доработки 11.02.2019
Принята к публикации 22.03.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1017–1022

A. V. Derkach, S. V. Trofimova

MODERN APPROACHES TO THE RETINITIS PIGMENTOSA TREATMENT IN THE OLDER AGE PATIENTS (LITERATURE REVIEW)

Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, 3 Dynamo pr., St. Petersburg 197110,
e-mail: dr.derkach.a@gmail.com

Retinitis pigmentosa is a hereditary degenerative retina disease, often severe and affecting the retinal pigment epithelium and photoreceptor layer. For the older age group, the disease is increased by the addition of age-related degenerative processes in the retina. Due to the diversity of development factors and forms of retinitis pigmentosa, there is no uniform concept for treating a disease. Applying gene therapy and the optogenetic method is currently impossible because they are at the stage of experimental studies. For patients with terminal stage of retinitis pigmentosa, the implantation of a bionic eye is possible — a device with the ability to restore residual vision. The main treatment method is therapeutic. There were a lot of experimental and clinical studies of various drugs, the efficiency of which varies. Peptide bioregulators are actively used, they support the structural and functional homeostasis of cell populations and have a retinoprotective effect. It is also particularly important to improve the somatic condition of the patient through the use of peptide drugs in the complex.

Key words: *retinitis pigmentosa, retina, peptide bioregulators, bionic eye, optogenetics, genetic therapy*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 572.512-053.9

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1023–1033

S. Perna [1], T. A. Alalwan [1], D. Spadaccini [2], S. Al-Thawadi [1], C. Gasparri [2], A. Isu [2], A. Riva [3], Z. Alaali [1], G. Iannello [4], P. Allegrini [4], V. Infantino [5], G. Peroni [2], M. Rondanelli [6, 7]

COMPARISON BETWEEN BIOIMPEDANCE ANALYSIS AND DUAL-ENERGY *X*-RAY ABSORPTIOMETRY IN ASSESSMENT OF BODY COMPOSITION IN A COHORT OF ELDERLY PATIENTS AGED 65–90 YEARS

[1] Department of Biology, College of Science, University of Bahrain, Sakhir Campus, P. O. Box 32038 Kingdom of Bahrain; [2] Endocrinology and Nutrition Unit, Azienda di Servizi alla Persona «Istituto Santa Margherita», University of Pavia, Pavia, 27100 Italy, e-mail: daniele.spadaccini01@universitadipavia.it; [3] Research and Development Unit, Indena, Milan, 20139 Italy; [4] General Management, Azienda di Servizi alla Persona di Pavia, Pavia, 27100 Italy; [5] Department of Biomedical Sciences and Human Oncology, University of Bari Aldo Moro, 70121 Italy; [6] IRCCS Mondino Foundation, Pavia, 27100 Italy; [7] Department of Public Health, Experimental and Forensic Medicine, Unit of Human and Clinical Nutrition, University of Pavia, Pavia, 27100 Italy

We compare bioimpedance analysis (BIA) with dual-energy *X*-ray absorptiometry (DXA) in the assessment of free fat mass (FFM), fat mass (FM) and percentage of body fat under different conditions in relation to age categories, hydration parameters, body mass index (BMI) and sarcopenia. A cross-sectional analysis of body composition was estimated by BIA and DXA in 379 hospitalized elderly patients. In addition, estimates of FFM, FM and percentage of body fat were investigated across different conditions. Paired *t*-tests, Bland—Altman plot and intraclass correlation coefficient analysis were used to compare methods. Data showed an underestimation of means (BIA versus DXA) of FFM (women: –0,97 kg, *p*<0,01; men: –1,99 kg; *p*<0,01), and an overestimation of both the FM (women: +1,11 kg; *p*<0,01; men: +1,67 kg; *p*<0,01) and percentage of body fat (women: +2,07 %, *p*<0,01; men: +2,82 %, *p*<0,01). BIA underestimated FFM and overestimated FM and percentage of body fat in patients from the age group of 75 to 85 years, in patients with a total body water content <60 %, in underweight and normal weight patients and in patients with sarcopenia (*p*<0,01). The intraclass coefficient results were indicative of poor reproducibility between BIA and DXA for FFM (women: +0,197; men: +0,250) and FM (women: +0,141; men +0,144). BIA is a good alternative for estimation of FFM and FM only in overweight or obese patients or in patients with good hydration status. BIA, on the other hand, is not an accurate method for assessing FFM in sarcopenic patients.

Key words: bioimpedance analysis, dual-energy X-ray absorptiometry, sarcopenia, hydration, body composition, aging

Bioimpedance analysis (BIA) and dual-energy *X*-ray absorptiometry (DXA) have not been evaluated among very old populations, in particular oldest old adults. The aging process involves an increase in body weight and fat mass (FM) followed by a gradual decline in body weight after the age of 60 [17, 38]. However, aging is a heterogeneous process in regards to the physiological changes it brings about, including alterations in body composition, body fat redistribution, a decline in subcutaneous fat, and an increase in visceral and intramuscular fat [5, 46].

These changes are closely linked to the development of several age-related dysfunctions including malnutrition, dementia, metabolic syndrome and sarcopenia.

Accurate body composition is a valuable diagnostic aid in elderly patients. In a healthcare setting, evaluation of body composition typically includes estimates of free fat mass (FFM), FM, and/or fat distribution. BIA measurements of body composition are less invasive, relatively inexpensive, easily to perform and does not require high operational expertise [12, 21, 25]. DXA is a widely employed technique for body composition assessments. It permits the direct measurement of FFM, FM, and bone mineral with high precision and accuracy (precisions for soft tissue measurements 2—3 %) and for this reason is considered a gold standard for assessment of body composition [18].

However, the DXA equipment is expensive, nonportable and, due to radiation, measurement requires a health care professional. Therefore, DXA is not widely available outside clinical and research settings.

Given this background, the aim of this study was to compare BIA with DXA as a measure for the assessment of FFM, FM and body fat percentage in a large sample of very old (including oldest old) Italian hospitalized subjects.

In addition, we have evaluated the comparison between BIA and DXA in different conditions, that are very important in elderly populations, such as category of age and body mass index (BMI), and also FFM with the evaluation of non-sarcopenic, sarcopenic, and sarcopenic obesity. Moreover, we have evaluated the hydration status with distinction between total, extracellular and intracellular body water, thanks to the choice of using bioimpedance vector analysis that allows evaluation of the state of hydration of tissues at the time of the analysis (Hydragram), overcoming errors of overestimation and underestimation of compartments related to the use of the hydration coefficient theoretical in adults [32].

Materials and methods

Setting

The study was performed in the city of Pavia in northern Italy. Subjects consecutively admitted to our physical medicine and rehabilitation division (Santa Margherita Institute, University of Pavia) were included in the study. The patients were largely referred from acute care hospitals for either follow-up care or rehabilitation, or local residents with chronic conditions associated with advanced aging requiring revision and updates to their treatments.

Study population inclusion and exclusion criteria

Eligible patients were elderly men and women, aged 65 years and older. We have limited the sample to only those patients who were able to be tested by DXA (excluding bedridden patients or subjects with diminished independent living skills). Furthermore, patients with bedsores or wearing compression stockings were excluded because they were not able to be assessed by BIA.

We recruited patients following the sample size of previous cross-sectional studies performed by M. Malavolti et al. [25] (68 females and 42 males aged 21–82 years); and J. P. Wilson et al. [44] with a total of 187 participants.

The ethics committee of the University of Pavia approved the design of the study and all patients gave informed written consent to participate in the study. Data was collected from the end of January 2011 to the end of May 2016.

Observed variables

Body composition assessment. Body composition (FFM, FM and gynoid and android fat distribution) was measured by DXA using a Lunar Prodigy (GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA). The following values were collected: bone mineral content (g), bone mineral density (g/cm^2), FM (g), lean mass including bone mineral content (FFM, g), and fat percent for whole body and anatomical regions. In-vivo coefficients of variation for FM and FFM were 0,89 and 0,48 %, respectively. The same investigator was responsible for all of the assessments for each given parameter. A whole-body scan was performed to measure total body FM.

The manufacturer's software was then used to discriminate body composition into three distinct compartments, namely bone mineral, fat, and fat-free soft tissue [26]. The total body skin entrance dose was <0,01 mSv, and the precision of measurement was ≈2 % (coefficient of variation) for soft tissue and ⩽1 % for bone mass and density.

R. N. Baumgartner et al. [4] defined body composition, associated with greater disability in elderly subjects, as a relative FFM lower than 73 % (ie a relative body fat greater than 27 %) in men and a FFM lower than 62 % (i. e. a body fat greater than 38 %) in women.

Skeletal Fat free mass Index was derived as the sum of fat-free soft tissue mass of arms and legs [10].

Hydration assessment by bioelectrical impedance was performed on the elderly patients because changes in fluid status affect the soft tissue composition estimated by DXA [27, 39]. Patients were instructed to lie in a supine position on a non-conductive surface to measure the whole-body resistance (R) and reactance (Xc) using a 400-μA, 50 kHz alternating current phase-sensitive, single-frequency impedance plethysmograph (BIA-101, model BIA-101 RJL/Akern Systems, Detroit, Michigan, USA). Data were performed in the post-absorbtive state after a 12-h overnight fast and measurements were performed between 7:00 and 9:00 AM. For each patient, self-adhering surface electrodes were placed on the right hand and foot, and measurements were taken according to the guidelines of the National Institutes of Health Technology Assessment Conference Statement [13, 32]. R and Xc were standardized by the standing height (H) of each individual (i. e. R/H and Xc/H), expressed in ohms per meter (ohm/m) and plotted on the R-Xc graph [31]. BIA expresses tissue hydration status and body cellular mass (BCM) solely considering the impedance vector relative to a population of healthy individuals [24], and was a valid method for detecting changes in hydration (classified as under-, normal or over-hydration) and body fluid volume changes [1–3, 31].

In this study, we identified the following hydration parameter thresholds in accordance with the study by S. F. Khalil et al. [19]: total water body (TBW)=60, extracellular water (ECW)=45 and intracellular water (ICW)=55.

Gender-specific bivariate reference intervals were available for the Italian healthy population as 50, 75, and 95 % tolerance ellipses on the R-Xc graph [13, 24, 27, 31, 32, 39].

Regarding the BIA method, the correlation between R and Xc determines the ellipsoidal form of the bivariate probability distributions (confidence intervals for average vectors and tolerance for individual vectors). The vector direction is defined as the phase angle (PA) and is the geometric relationship between R and Xc. PA has been validated as an indicator of cellular health [28, 45] and has been interpreted as an index of fluid distribution between the intracellular and extracellular compartments [16], showing an inverse correlation with the ECW:TBW [9].

On the other hand, the length of the vector indicates hydration status from fluid overload (decreased resistance, short vector) to exsiccosis (increased resistance, longer vector), and a sideways migration of the vector due to low or high reactance indicates a decrease or increase in the dielectric mass (membranes and tissue interfaces) of soft tissues [30]. The individual vector can be ranked on the RXc point graph with regard to tolerance ellipses representing 50, 75 and 95 % according to the values of a reference population [32]. A comparison between the mean vectors of different samples with the 95 % confidence ellipses can be performed on the RXc mean graph. Furthermore, the mean vector displacement of a group with the 95 % confidence ellipse pre- to post-intervention was plotted on the RXc paired graph [34].

Assessment of Body Mass Index (BMI). BMI was expressed as weight/height^2 and the BMI categories of underweight (<18,5), normal weight (18,5—24,9), overweight (25—29,9) and obese (>29,9) were used.

Diagnosis of Sarcopenia and Sarcopenic Obesity. The diagnosis of sarcopenia was assigned if patients were with appendicular skeletal FFM divided by height squared two standard deviations (SD) below the mean of young adults, so with relative muscle mass <7,26 kg/m^2 for men and <5,5 kg/m^2 for women [4].

Appendicular skeletal mass (ASM, in kg) was calculated by summing the muscle masses of the four limbs, assuming that all non-fat and non-bone mass is skeletal muscle. Skeletal muscle index (SMI) was defined as ASM divided by height squared. For determination of the cut-off value, the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) [10], the Asian Working Group for Sarcopenia (AWGS) [8] and the International Working Group on Sarcopenia (IWGS) [14] adopt the classical approach, which is two standard deviations below mean values for young reference group. The definition of sarcopenia used in this study was two SDs below mean lean body mass of peak muscle mass of young women.

According to Baumgartner et al., sarcopenic obesity is the ASM divided by height squared less than two SDs below the sex-specific mean of a younger reference group and percentage of body fat greater than 27 and 38 % in men and women, respectively (approximately a BMI of 27 kg/m^2) [4].

Age category

Age (i.e. between 75 and 85 years old or over 85 years old) thresholds were stated for assessing elderly subject in the category of «aging» and «very old» [15].

Statistical Analysis

This study has been performed in accordance with STROBE guidelines [41].

Statistical analysis was performed by SPSS version 21 (SPSS, Inc. Chicago, USA) [7].

Significances of difference between BIA and DXA (splitted for gender) were determined by paired *t*-test. A p-value <0,05 and 0,01 was considered significant. Bland—Altman plots were used to test for trends in differences between free fat mass and fat mass results once a linear mapping between BIA and DXA had been applied [6]. In addition, in exploring the variability of the data to gauge reliability demonstrated, we used the intraclass correlation coefficient (ICC). The ICC formula used was suggested by J. P. Weir [42].

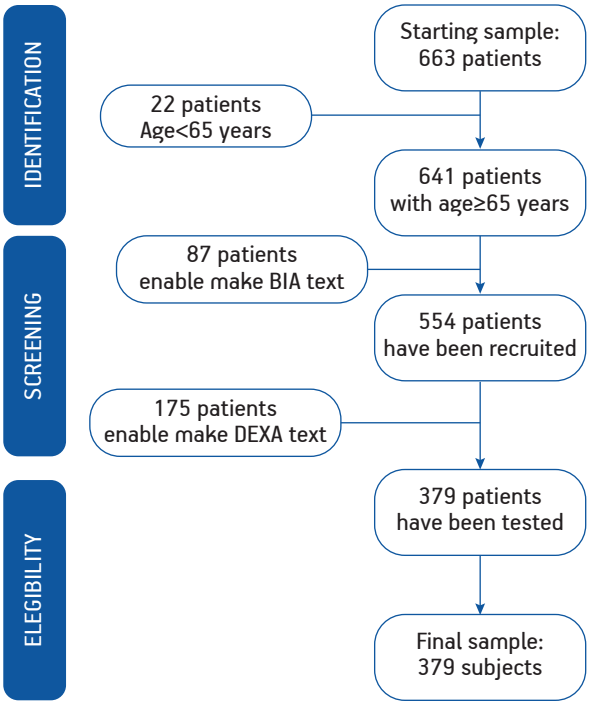
The ICC, having values between 0 and 1, is based on analysis of variance techniques. Regression equations were expressed using the H. Passing and W. Bablok methods [29].

The results were averaged (*mean + standard deviation*) and normality of data was tested using Kolmogorov—Smirnov test.

Results and discussion

Sample

As shown in *figure* 663 patients were selected for enrollment in this study. Of these, 22 were excluded due to a younger age (age <65 years old),



Flow diagram of the study

87 were unable to be assessed with BIA, and 175 were unable to be assessed with DXA. After the exclusion, 379 patients (57,16 %) consisting of 267 women (70,45 %) and 112 men (29,55 %) were included in the study. The number of women selected was higher than the number of men, in line with normal distribution of Italian elderly. Their mean age was 82,05±6,37 years, mean of BMI was 25,31±5,04 and the Mini Nutritional Assessment (MNA) score was 17,78±3,16. Other general characteristics are shown in *tabl. 1*.

Agreement between methods in total sample

Bland—Altman plots showed the limits of agreement for FFM and FM between BIA and DXA in both genders: an agreement was found for both DXA FFM/BIA FFM and DXA FM/BIA FM. The differences between these two methods for the patients were generally within two SDs of the mean differences. Regression equation was expressed as: $y=a\cdot(95\,\%\cdot CI)+b\cdot(95\,\%\cdot CI)$, H. Passing and W. Bablok regression [29].

ICC results were indicative of poor reproducibility between BIA and DXA for FFM (women: +0,197; men: +0,250) and for FM (women: –0,141; men –0,144).

In particular, results of Bland—Altman plots of the comparison were:

FFM (in kg) by BIA versus DXA in women: *mean*=–0,97; *SD*=±3,17; R^2=0,048; *ICC*=+0,197;

FFM (in kg) by BIA versus DXA in men: *mean*=–1,99; *SD*=±4,45; R^2=0,077; *ICC*=+0,250;

FM (in kg) by BIA versus DXA in women: *mean*=1,11; *SD*=±3,30; R^2=0,050; *ICC*=–0,141;

FM (in kg) by BIA versus DXA in men: *mean*=1,68; *SD*=±4,37; R^2=0,029; *ICC*=– 0,144.

Participant's characteristics and general comparison between DXA and BIA

The patients had a mean age of 82,05±6,37 years and a mean weight of 61,49±13,42 kg with a mean BMI of 25,31±5,04 kg/m^2. As shown in *tabl. 2*, there was an underestimation of FFM in both women (–0,97 kg; p<0,01) and men (–1,99 kg; p<0,01). In both genders there was an overestimation in FM (women: 1,11 kg; p<0,01; men: 1,67 kg; p<0,01) and percentage of body fat (women: 2,07 %; p<0,01; men: 2,82 %; p<0.01).

Comparison between methods in different age categories

Table. 2 shows the comparison of DXA and BIA in estimating body composition according to age and gender categories. In terms of age, the patients were divided into from 75 to 85 years and more than 85 years. For patients between 75 and 85 years of age, there were statistical mean differences in all settings considered. In both women and men there was an underestimation of FFM (–0,85 kg; p<0,01 and –2,27 kg; p<0,01, respectively) but there was also an overestimation of FM and percentage of body fat (+0,99; p<0,01 kg and +1,70 %; p<0,01 in women and +1,73 kg; p<0,01 and +2,84 %; p<0,01 in men).

For patients over 85 years old, significant differences in all considered variables were only observed in women, but not in men with FFM being underestimated (–1,10 kg; p<0,01), while FM and percentage of body fat being overestimated (+1,40 %; p<0,01 and +2,78 %; p<0,01).

Comparison between methods in different hydration status

Tabl. 3 shows the comparison of DXA and BIA in estimating body composition between groups according to hydration parameters and gender categories. The sample was evaluated on three outcomes: total body water (TBW), ECW and ICW. TBW content was further divided into two hydration categories: good

Table 1

Characteristics baseline of the sample

Variables	Women	Men	Total sample
	mean±SD	*mean±SD*	*mean±SD*
General characteristics			
Age, years	82,54±6,39	80,89±6,21	82,05±6,37
Height, cm	152,20±7,15	164,41±7,80	155,81±9,22
Weight, kg	58,63±12,85	68,32±12,28	61,49±13,42
BMI, kg/m^2	25,27±5,22	25,39±4,57	25,31±5,04
MNA, score	17,63±3,17	18,14±3,09	17,78±3,16
MMSE, score	17,88±6,55	18,47±6,79	18,05±6,61
DXA Parameters			
FFM arms, kg	3,56±0,84	5,29±1,08	4,07±1,21
FFM legs, kg	11,50±2,11	15,21±2,83	12,60±2,89
SMI, kg/m^2	6,49±1,08	7,59±1,22	6,82±1,22
FFM, kg	37,63±4,95	50,07±6,83	41,31±7,95
FFM, %	65,73±10,45	74,56±8,86	68,34±10,78
FM, kg	21,01±9,71	18,35±8,66	20,23±9,48
FM, %	34,07±10,52	25,91±9,11	31,66±10,78
Total tissue, kg	56,83 ±12,57	65,90±12,03	59,51±13,07
BIA Parameters			
TBW (l)	29,37±4,45	38,48±6,39	32,06±6,58
TBW, %	51,04±6,57	56,95±6,10	52,78±6,97
ECW (l)	15,68±2,58	19,40±3,64	16,78±3,39
ECW, %	53,54±6,16	50,75±6,13	52,71±6,27
ICW (l)	13,62±3,01	19,15±4,11	15,25±4,21
ICW, %	46,15±6,02	49,82±6,19	47,24±6,29
FFM, kg	36,67±5,62	48,08±8,01	40,04±8,26
FFM, %	63,65±8,33	71,68±7,91	66,02±8,98
FM, kg	22,12±8,99	20,02±7,94	21,50±8,73
FM, %	36,14±8,52	28,73±7,85	33,95±8,98

status (>60 % of body weight), and insufficient status (<60 % of body weight).

In the first group, there were significant differences observed only in women with an underestimation of FFM (–1,37 kg; $p<0,05$) and an overestimation of FM and percentage of body fat (+1,44 kg; $p<0,05$ and +3,91 %; $p<0,01$).

In the second group, significant mean differences in all considered settings were found. There was an underestimation of FFM (–0,93 kg; $p<0,01$ in women and –2,76 kg; $p<0,01$ in men) but there was also an overestimation of FM and percentage of body fat (+1,08 kg; $p<0,01$ and +1,88 %; $p<0,01$ in women and +2,29 kg; $p<0,01$ and +3,72 %; $p<0,01$ in men).

For patients with an ICW percentage lower than 55 %, there were significant differences in all considered settings. FFM was underestimated (–1,00 kg; $p<0,01$ in women and –2,02 kg; $p<0,01$ in men), while FM and percentage of body fat were overestimated (+1,14 kg; $p<0,01$ and +2,11 %; $p<0,01$ in women and +1,51 kg; $p<0,01$ and +2,63 %; $p<0,01$ in men).

Similarly, for patients with an ECW percentage higher than 45 %, there were significant differences in all considered settings. FFM was underestimated (–0,98 kg; $p<0,01$ in women and –1,92 kg; $p<0,01$ in men), while FM and percentage of body fat were overestimated (+1,14 kg; $p<0,01$ kg and +2,12 %; $p<0,01$ in women and +1,54 kg; $p<0,01$ and +2,55 %; $p<0,01$ in men).

Comparison between methods for BMI categories

Tabl. 4 shows the comparison of DXA and BIA in estimating body composition between groups according to BMI and gender categories. According

Table 2

Paired t-test for the comparison of means (BIA versus DXA) of body composition between groups according to age categories

Age group		75–85 years		Over 85 years	
		mean (*SD*)	*p*-value	*mean* (*SD*)	*p*-value
Variable					
n (women/men)		*n*=139/69		*n*=96/30	
FFM, kg					
DXA	women	37,95 (36,46–37,54)		37,01 (36,30–37,70)	
BIA		37,10 (36,32–37,68)	<0,01	35,91 (34,13–35,87)	<0,01
DXA	men	50,73 (49,32–50,68)		48,86 (46,40–49,60)	
BIA		48,46 (47,19–48,81)	<0,01	45,85 (43,10–46,90)	<0,01
Fat mass, kg					
DXA	women	21,67 (19,80–22,20)		19,39 (17,40–20,60)	
BIA		22,66 (20,90–23,10	<0,01	20,79 (18,40–21,60)	<0,01
DXA	men	19,14 (18,05–19,95)		17,85 (15,30–18,70)	
BIA		20,87 (19,05–20,95)	<0,01	18,94 (16,40–19,60)	<0,01
Percentage of fat, %					
DXA	women	34,87 (32,80–35,20)		32,38 (30,10–33,90)	
BIA		36,57 (34,90–37,10)	<0,01	35,16 (33,40–36,60)	<0,01
DXA	men	26,61 (24,90–27,10)		25,64 (23,10–26,90)	
BIA		29,45 (28,05–29,95)	<0,01	27,72 (26,60–28,40)	NS

to BMI, the patients were divided into three groups namely, normal weight, overweight, and obese.

For normal weight patients, there were significant differences in all considered settings. FFM was underestimated (–1,45 kg; $\rho<0,01$ in women and –3,07 kg; $\rho<0,01$ in men), while FM and percentage of body fat were overestimated (+1,75 kg; $\rho<0,01$ kg and +2,82 %; $\rho<0,01$ in women and +2,68 kg; $\rho<0,01$ and +4,41 %; $\rho<0,01$ in men).

No significant differences were found in the overweight group with the exception of FFM in men where it was underestimated (–1,46 kg; $\rho<0,05$). For obese patients, no significant differences were found in all evaluated settings in both genders.

Comparison between methods for sarcopenia stages

Tabl. 5 shows the comparison of DXA and BIA in estimating body composition between groups according to sarcopenia. The sample was divided into non-sarcopenic subjects (SMI>5,45 kg/m^2 in women and SMI>7,26 kg/m^2 in men) and sarcopenic subjects (SMI<5,45 kg/m^2 in women and SMI<7,26 kg/ m^2 in men). For non-sarcopenic patients, there were significant differences in all considered settings. FFM was underestimated (–1,01 kg; $\rho<0,01$ in women and –2,40 kg; $\rho<0,01$ in men), while FM and percentage of body fat were overestimated (+1,22 kg; $\rho<0,01$ and +2,18 %; $\rho<0,01$ in women and +2,20 kg; $\rho<0,01$ and +3,52 %; $\rho<0,01$ in men).

For sarcopenic patients, no significant differences were found in all evaluated settings in both genders.

Discussion

In this study, we present for the first time a comparison of BIA to DXA under different conditions such as age (75 to 85-year-old and over 85-year old), hydration status (TBW, ECW and ICW), BMI (normal weight, overweight and obesity) and SMI (non-sarcopenia and sarcopenia groups). A further novelty of the study is that it includes body composition estimates of BIA in comparison to DXA of the most elderly age category, which to the best of our knowledge has not been previously reported in the literature.

We compared BIA to DXA in order to assess the effect of age on the estimation of body composition. We demonstrated comparison of data only in women and men aged over 85 years, while in the other categories we found significant differences.

In accordance with our data, a recent study found that BIA systematically overestimates FFM in both women and men in almost all age categories compared to DXA. Consistently in this study, in men over 70 years, these two methods were comparable in body composition analysis at the group level, but our data do not confirm it [37].

The results of BIA data in well-hydrated patients (>60 % of body weight), associated with a good distribution of ICW and ECW are highly cor-

related to parameters assessed by DXA, indicating that BIA is able to correctly estimate FM and FFM in both women and men. Furthermore, no comparison was found with the state of dehydration and the alteration of distribution of body weight. Unfortunately, no relevant literature has been found on this topic.

When considering BMI threshold, the results showed an underestimation of FFM and an overestimation of FM and percentage of body fat in normal weight subjects (ranging from 2,82 to 4,41%).

Our study shows that the comparison is directly related to BMI increase. This could be a useful result, since elderly obesity is paradoxically associated with a lower risk of mortality, with an ideal BMI of 27 kg/m^2, as evidenced in different studies [33, 43].

In contrast, a study by Ling et al. demonstrated that the underestimation of FFM and overestimations of FM and percentage of body fat by BIA increase with a higher BMI [23].

However, the difference in results may be explained by the different devices used. We used the unifrequency vector BIA, whereas other studies used the segmental multifrequency BIA. Moreover, the sample sizes in previous studies were relatively small compared to the present study [33, 37, 43].

For geriatric inpatients, the BIA estimation of body composition results were different in the group of sarcopenic subjects compared to the DXA-based approach. No comparison of estimation data, between

Table 3

Paired *t*-test for the comparison of means (BIA versus DXA) of body composition between groups according to hydration parameters

Hydration parameters			Total body water				Extra and Intra-cellular water			
			TBW≥60		TBW<60		ECW>45		ICW<55	
			mean (SD)	*p*-value	*mean (SD)*	*p*-value	*mean (SD)*	*p*-value	*mean (SD)*	*p*-value
Variable										
n (women/men)			*n*=24/30		*n*=243/82		*n*=249/93		*n*=252/90	
FFM, kg										
DXA	women		36,07 (34,90–37,10)		37,79 (36,52–37,43)		37,57 (36,57–37,43)		37,57 (36,57–37,43)	
BIA			34,70 (32,70–35,30)	<0,05	36,86 (35,46–36,54)	<0,01	36,59 (35,46–36,54)	<0,01	36,57 (35,35–35,65)	<0,01
DXA	men		49,81 (47,10–50,90)		50,16 (49,35–50,65)		50,03 (49,35–50,75)		49,76 (48,35 -49,65)	
BIA			49,94 (46,60 -51,40)	NS	47,40 (46,24–47,76)	<0,01	48,11 (47,24–48,76)	<0,01	47,74 (46,35–47,65)	<0,01
FM, kg										
DXA	women		6,66 (4,90–7,10)		22,43 (21,13–22,87)		20,75 (19,02–20,98		20,74 (19,02 -20,98)	
BIA			8,10 (7,20–8,80)	<0,05	23,51 (22,13–23,87)	<0,01	21,89 (20,13–21,87)	<0,01	21,88 (20,13–21,87)	<0,01
DXA	men		13,15 (10,90–15,10)		20,25 (19,24–20,76)		18,47 (17,13–18,87)		17,92 (16,26–17,74)	
BIA			13,15 (10,90–15,10)	NS	22,54 (21,35–22,65)	<0,01	20,01 (19,24–20,76)	<0,01	19,43 (18,26–19,74)	<0,01
Percentage of fat, %										
DXA	women		14,59 (12,10–15,90)		36,00 (35,13–36,87)		33,88 (31,90–34,10)		33,82 (31,90–34,10)	
BIA			18,50 (16,90–19,10)	<0,01	37,88 (36,35–37,65)	<0,01	36,00 (35,13–36,87)	<0,01	35,93 (34,15–35,85)	<0,01
DXA	men		20,02 (17,60–22,40)		28,07 (27,24 -28,76)		26,13 (25,02–26,98)		25,62 (24,15–25,85)	
BIA			20,37 (18,10–21,90)	NS	31,79 (30,46–31,54)	<0,01	28,68 (27,24–28,76)	<0,01	28,25 (27,26–28,74)	<0,01

Table 4

Paired *t*-test for the comparison of means (BIA versus DXA) of body composition between groups according to BMI categories

BMI		Normal weight		Overweight		Obesity	
		18,5≤BMI<24,9		24,9≤BMI<29,9		BMI≥29,9	
		mean (*SD*)	*p*-value	*mean* (*SD*)	*p*-value	*mean* (*SD*)	*p*-value
Variable							
n (women/men)		*n*=113/53		*n*=89/39		*n*=41/16	
Free fat mass, kg							
DXA	women	36,05 (34,54–35,46)		38,43 (37,46–38,54)		42,60 (40,40–43,60)	
BIA		34,60 (33,39–34,61)	<0,01	37,82 (66,28–67,72)	NS	42,98 (40,40–43,60)	NS
DXA	men	48,40 (47,09–48,91)		50,88 (49,10–50,90)		56,08 (54,20–57,80)	
BIA		45,33 (44,09–45,91)	<0,01	49,42 (48,10–49,90)	<0,05	57,11 (54,40–59,60)	NS
Fat mass, kg							
DXA	women	16,35 (15,24–16,76)		24,38 (23,28–24,72)		35,66 (33,40–36,60)	
BIA		18,10 (17,24–18,76)	<0,01	24,76 (23,28 -24,72)	NS	35,82 (33,40–36,60)	NS
DXA	men	13,19 (12,39–13,61)		21,39 (20,01–21,90)		31,47 (29,20–32,80)	
BIA		15,87 (14,24–15,76)	<0,01	22,58 (21,10–22,90)	NS	30,25 (27,90–32,10)	NS
Percentage of fat, %							
DXA	women	30,70 (28,90–31,10)		38,61 (37,10–38,90)		45,52 (44,22–45,70)	
BIA		33,52 (32,24–33,76)	<0,01	39,57 (38,10–39,90)	NS	45,53 (44,48 -45,52)	NS
DXA	men	21,26 (19,90–22,10)		29,47 (27,90–30,10)		36,60 (34,40–36–60)	
BIA		25,67 (23,90–26,10)	<0,01	31,21 (29,90–32,10)	NS	34,86 (32,40–35,60)	NS

BIA and DXA, were found in the sarcopenic cohort for both genders (underestimation of FFM).

A recent study showed that the BIA-based approaches resulted in marked differences in groups of sarcopenic subjects compared to the DXA-based approach. This can be explained by the underestimation of FFM by BIA, which is in accordance with our data [35].

Even this BIA method, however, has been shown to produce conflicting results in body composition estimates, especially as it has overestimated FM and underestimated FFM upon validation against DXA [11, 20, 22, 23, 25, 36, 40].

Strength and Limitations

The strength of the study lies in the large sample number with a good distribution for all conditions evaluated. It is important, however, to highlight that this sample is a convenience (non-random) sample and that the study has deficiency of generalizability.

Nonetheless, the representative dataset allowed for the estimation of body FM and FFM over age from 65 to 98 years old, and to investigate whether the difference between BIA and DXA methods is affected by age, gender, hydration status, BMI and sarcopenia. Another strength of this study is the use of the Bland—Altman test, which involves the researchers' judgment. we observe that the variation of the average by confidence interval is clinically important, and the two methods cannot be considered interchangeable.

Moreover, an additional strength is the use of the vector unifrequency BIA, instead of the traditional multifrequency BIA, as it allows for the evaluation of the state of hydration of tissues at the time of analysis, overcoming errors of overestimation and underestimation of the compartments related to the use of the hydration coefficient (73 %) theoretical in adults [32]. In addition, regarding ECW<45 % and ICW>55 % they are not evaluated because of very small sample size.

Using DXA as a reference method, we have limited the sample to those patients who were able to be tested, excluding bedridden patients or those with reduced independent living skills. Another limitation that compromised BIA assessment was the exclusion of all patients with bedsores or those wearing compression stockings. Finally, another limitation is that the results are specific to the BIA equipment used in this study and, consequently, cannot be generalized to other BIA devices.

Table 5

Paired *t*-test for the comparison of means (BIA versus DXA) of body composition between groups according to sarcopenia

Skeletal Fat free mass		Sarcopenic	*p*-value	Not sarcopenic	*p*-value
		men: SMI<7,26		men: SMI≥7,26	
		women: SMI<5,45		women: SMI≥5,45	
		mean (*SD*)	*p*-value	*mean* (*SD*)	*p*-value
Variable					
n (women/men)		*n*=231/71		*n*=36/41	
Free fat mass, kg					
DXA	women	38,32 (37,55–38,45)		33,24 (32,55–33,45)	
BIA		37,31 (36,44–37,56)	<0,01	32,51 (31,11–32,89)	NS
DXA	men	52,75 (51,44–52,56)		45,43 (43,90–46,10)	
BIA		50,35 (49,21–50,79)	<0,01	44,14 (42,70–45,30)	NS
Fat mass, kg					
DXA	women	21,64 (20,00–22,00)		16,99 (14,20–17,80)	
BIA		22,86 (12,00–32,00)	<0,01	17,38 (15,40–18,60)	NS
DXA	men	19,07 (19,00–200)		17,10 (15,40–18,60)	
BIA		21,27 (20,21–21,79)	<0,01	17,87 (15,40–18,60)	NS
Percentage of fat, %					
DXA	women	34,40 (32,90–35,10)		31,93 (28,50–33,50)	
BIA		36,58 (35,10–36,90)	<0,01	33,32 (31,00–35,00)	NS
DXA	men	25,72 (24,00–26,00)		26,24 (24,00–28,00)	
BIA		29,24 (28,21–29,79)	<0,01	27,83 (25,20–28,80)	NS

Notes. NS — not statistically significant; $p<0,01$ and $p<0,05$: statistically significant difference between DXA and BIA.

Conclusions

The present study is the first to demonstrate in a large cohort of elderly patients (65 to 90 years old) that BIA underestimated FFM and overestimated FM and percentage of body fat among the oldest old. Consequently, in geriatric patients, BIA is incapable of assessing both FM and FFM in patients aged 65–90 years, which could lead to clinical diagnostic errors. Nevertheless, BIA is a good alternative for estimation of FM and FFM in well-hydrated patients and in overweight or obese patients (considering all geriatric subjects).

In other terms, BIA, due to its inferior cost and its portability, is crucial for screening of body composition in elderly in the clinical setting, while DXA is useful for further investigations in subjects with an established diagnosis associated with geriatric nosology.

Declaration of interest. *None.*

Ethics. *Informed consent was obtained from all patients after the nature of the procedure was fully explained and the study was approved by the ethics committee of the University of Pavia. All procedures performed were in accordance with the 1964 Declaration of Helsinki and the STROBE guidelines.*

References

1. *Adams F.* How much do elders drink? // Geriat. Nurs. (Minneap). 1988. Vol. 9. № 4, P. 218–221.

2. *Altman P., Katz D.* Blood and other body fluids. Washington, 1961.

3. *American Medical Directors Association*, Dehydration and fluid maintenance in the long-term care setting. Columbia, MD, USA, 2009, P. 1–29.

4. *Baumgartner R.N., Koehler K.M., Gallagher D. et al.* Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico // Amer. J. Epidem. 1998. Vol. 147. № 8. P. 755–763.

5. *Beaufrère B., Morio B.* Fat and protein redistribution with aging: metabolic considerations // Europ. J. clin. Nutr. 2000. Vol. 54. Suppl. 3. P. S48–53.

6. *Bland J.M., Altman D.G.* Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement // Lancet (London, England). 1986. Vol. 1. № 8476. P. 307–310.

7. *Brosius F.* SPSS 21, MITP-Verlags GmbH & Co, 2013.

8. *Chen L.-K., Liu L.-K., Woo J. et al.* Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia // J. Amer. Med. Dir. Ass. 2014. Vol. 15. № 2. P. 95–101.

9. *Chertow G.M., Lowrie E.G., Wilmore D.W. et al.* Nutritional assessment with bioelectrical impedance analysis in maintenance hemodialysis patients // J. Amer. Soc. Nephrol. 1995. Vol. 6. № 1. P. 75–81.

10. *Cruz-Jentoft A.J., Baeyens J.P., Bauer J.M. et al.* European Working Group on Sarcopenia in Older People, Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People // Age Ageing. 2010. Vol. 39. № 4. P. 412–423.

11. *Demura S., Sato S., Kitabayashi T.* Percentage of total body fat as estimated by three automatic bioelectrical impedance

analyzers// J. Physiol. Anthropol. Appl. Hum. Sci. 2004. Vol. 23. № 3. P. 93–99.

12. *Dey D.K., Bosaeus I., Lissner L., Steen B.* Body composition estimated by bioelectrical impedance in the Swedish elderly. Development of population-based prediction equation and reference values of fat-free mass and body fat for 70- and 75-y olds // Europ. J. clin. Nutr. 2003. Vol. 57. № 8. P. 909–916.

13. *Ellis K.J., Bell S.J., Chertow G.M. et al.* Bioelectrical impedance methods in clinical research: a follow-up to the NIH Technology Assessment Conference // Nutrition. 1999. Vol. 15. № 11–12. P. 874–880.

14. *Fielding R.A., Vellas B., Evans W.J. et al.* Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia // J. Amer. Med. Dir. Ass. 2011. Vol. 12. № 4. P. 249–256.

15. *Fuchs L., Chronaki C.E., Park S. et al.* ICU admission characteristics and mortality rates among elderly and very elderly patients // Intensive Care Med. 2012. Vol. 38. № 10. P. 1654–1661.

16. *Goovaerts H.G., Faes T.J., De Valk-de Roo G.W. et al.* Extra-cellular volume estimation by electrical impedance--phase measurement or curve fitting: a comparative study // Physiol. Meas. 1998. Vol. 19. № 4. P. 517–526.

17. *Hughes V.A., Roubenoff R., Wood M. et al.* Anthropometric assessment of 10-y changes in body composition in the elderly // Amer. J. clin. Nutr. 2004. Vol. 80. № 2. P. 475–482.

18. *Jebb S.A., Goldberg G.R., Elia M.* DXA measurements of fat and bone mineral density in relation to depth and adiposity // Basic Life Sci. 1993. Vol. 60. P. 115–119.

19. *Khalil S.F., Mohktar M.S., Ibrahim F.* The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases // Sensors (Basel). 2014. Vol. 14. № 6. P. 10895–10928.

20. *Kim M., Shinkai S., Murayama H., Mori S.* Comparison of segmental multifrequency bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of body composition in a community-dwelling older population // Geriat. Geront. Int. 2015. Vol. 15. № 8. P. 1013–1022.

21. *Kyle U.G., Bosaeus I., De Lorenzo A.D. et al.* Bioelectrical impedance analysis-part II: utilization in clinical practice // Clin. Nutr. 2004. Vol. 23. № 6. P. 1430–1453.

22. *Leahy S., O'Neill C., Sohun R., Jakeman P.* A comparison of dual energy X-ray absorptiometry and bioelectrical impedance analysis to measure total and segmental body composition in healthy young adults // Europ. J. Appl. Physiol. 2012. Vol. 112. № 2. P. 589–595.

23. *Ling C.H.Y., De Craen A.J.M., Slagboom P.E. et al.* Accuracy of direct segmental multi-frequency bioimpedance analysis in the assessment of total body and segmental body composition in middle-aged adult population // Clin. Nutr. 2011. Vol. 30. № 5. P. 610–615.

24. *Lukaski H.C.* Requirements for Clinical Use of Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) // Ann. N.Y.Acad. Sci., John Wiley & Sons, Ltd (10.1111). 1999. Vol. 873. № 1. P. 72–76.

25. *Malavolti M., Mussi C., Poli M. et al.* Cross-calibration of eight-polar bioelectrical impedance analysis versus dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of total and appendicular body composition in healthy subjects aged 21–82 years // Ann. Hum. Biol. 2003. Vol. 30. № 4. P. 380–391.

26. *Mazess R.B., Barden H.S., Bisek J.P., Hanson J.* Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition // Amer. J. clin. Nutr. 1990. Vol. 51. № 6. P. 1106–1112.

27. *Moon J.R., Stout J.R., Smith-Ryan A.E. et al.* Tracking fat-free mass changes in elderly men and women using single-frequency bioimpedance and dual-energy X-ray absorptiometry: a four-compartment model comparison // Europ. J. clin. Nutr. 2013. Vol. 67. № S1. P. S40–S46.

28. *Norman K., Stobäus N., Pirlich M., Bosy-Westphal A.* Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis — clinical relevance and applicability of impedance parameters // Clin. Nutr. 2012. Vol. 31. № 6. P. 854–861.

29. *Passing H., Bablok W.* A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in Clinical Chemistry, Part I // Clin. Chem. Lab. Med. (Walter de Gruyter, Berlin–New York). 1983. Vol. 21. № 11. P. 709–720.

30. *Piccoli A.* Whole Body — Single Frequency Bioimpedance // Contrib Nephrol. 2005. Vol. 149. P. 150–161.

31. *Piccoli A., Piazza P., Noventa D. et al.* A new method for monitoring hydration at high altitude by bioimpedance analysis // Med. Sci. Sports Exerc. 1996. Vol. 28. № 12. P. 1517–1522.

32. *Piccoli A., Rossi B., Pillon L. Bucciante G.* A new method for monitoring body fluid variation by bioimpedance analysis: the RXc graph // Kidney Int. 1994. Vol. 46. № 2. P. 534–539.

33. *Pichard C., Kyle U.G., Morabia A. et al.* Nutritional assessment: lean body mass depletion at hospital admission is associated with an increased length of stay // Amer. J. clin. Nutr. 2004. Vol. 79. № 4. P. 613–618.

34. *Pillon L., Piccoli A.*, RXc graph and RXc Z-score graph methods // US Pat. App. 2003. Vol. 10. № 740. P. 911.

35. *Reiss J., Iglseder B., Kreutzer M. et al.* Case finding for sarcopenia in geriatric inpatients: performance of bioimpedance analysis in comparison to dual X-ray absorptiometry // BMC Geriat. 2016. Vol. 16. № 1. P. 52.

36. *Shafer K.J., Siders W.A., Johnson L.K., Lukaski H.C.* Validity of segmental multiple-frequency bioelectrical impedance analysis to estimate body composition of adults across a range of body mass indexes // Nutrition. 2009. Vol. 25. № 1. P. 25–32.

37. *Sillanpää E., Cheng S., Häkkinen K.* Body composition in 18- to 88-year-old adults--comparison of multifrequency bioimpedance and dual-energy X-ray absorptiometry // Obesity (Silver Spring). 2014. Vol. 22. № 1. P. 101–109.

38. *Starling R.D., Ades P.A., Poehlman E.T.* Physical activity, protein intake, and appendicular skeletal muscle mass in older men // Amer. J. clin. Nutr. Narnia. 1999. Vol. 70. № 1. P. 91–96.

39. *St-Onge M.-P., Wang Z., Horlick M. et al.* Dual-energy X-ray absorptiometry lean soft tissue hydration: independent contributions of intra- and extracellular water // Amer. J. Physiol. Metab. 2004 Vol. 287. № 5. P. E842–E847.

40. *Völgyi E., Tylavsky F.A., Lyytikäinen A. et al.* Assessing Body Composition With DXA and Bioimpedance: Effects of Obesity, Physical Activity, and Age // Obesity. John Wiley & Sons, Ltd, 2008. Vol. 16. № 3. P. 700–705.

41. *Von Elm E., Altman D.G., Egger M. et al.* The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for Reporting Observational Studies // Ann. intern. Med. 2007. Vol. 147. № 8. P. 573.

42. *Weir J.P.* Quantifying Test-Retest Reliability Using the Intraclass Correlation Coefficient and the SEM, J // Strength Cond. Res. 2005. Vol. 19. № 1. P. 231.

43. *Wilson M.-M.G., Morley J.E.* Impaired cognitive function and mental performance in mild dehydration // Europ. J. clin. Nutr. 2003. Vol. 57. № S2. P. S24–S29.

44. *Wilson J.P., Strauss B.J., Fan B. et al.* Improved 4-compartment body-composition model for a clinically accessible measure of total body protein // Amer. J. clin. Nutr. 2013. Vol. 97. № 3. P. 497–504.

45. *Yanovski S.Z., Hubbard V.S., Heymsfield S.B., Lukaski H.C.*, Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National Institutes of Health Technology Assessment Conference Statement // Amer. J. clin. Nutr. 1996. Vol. 64. № 3. Suppl. P. 524S–532S.

46. *Zamboni M., Armellini F., Harris T. et al.* Effects of age on body fat distribution and cardiovascular risk factors in women // Amer. J. clin. Nutr. 1997. Vol. 66. № 1. P. 111–115.

Поступила в редакцию 04.05.2019
После доработки 11.07.2019
Принята к публикации 26.07.2019

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1023–1033

S. Perna [1], T. A. Alalwan [1], D. Spadaccini [2], S. Al-Thawadi [1], C. Gasparri [2], A. Isu [2], A. Riva [3], Z. Alaali [1], G. Iannello [4], P. Allegrini [4], V. Infantino [5], G. Peroni [2], M. Rondanelli [6, 7]

СРАВНЕНИЕ БИОИМПЕДАНСНОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ И ДВУХЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ АБСОРБЦИОМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ КОНСТРУКЦИИ ТЕЛА У ПАЦИЕНТОВ 65–90 ЛЕТ

[1] Department of Biology, College of Science, University of Bahrain, Sakhir Campus, P. O. Box 32038 Kingdom of Bahrain; [2] Endocrinology and Nutrition Unit, Azienda di Servizi alla Persona «Istituto Santa Margherita», University of Pavia, Pavia, 27100 Italy, e-mail: daniele.spadaccini01@universitadipavia.it; [3] Research and Development Unit, Indena, Milan, 20139 Italy; [4] General Management, Azienda di Servizi alla Persona di Pavia, Pavia, 27100 Italy; [5] Department of Biomedical Sciences and Human Oncology, University of Bari Aldo Moro, 70121 Italy; [6] IRCCS Mondino Foundation, Pavia, 27100 Italy; [7] Department of Public Health, Experimental and Forensic Medicine, Unit of Human and Clinical Nutrition, University of Pavia, Pavia, 27100 Italy

Мы сравнили биоимпедансный метод диагностики с двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрией (ДЭХА) в оценке массы свободного жира, массы жира и доли жира в организме в различных условиях в зависимости от возрастных категорий, параметров гидратации, ИМТ и саркопении. Кросс-секционный анализ состава тела был оценен с помощью биоимпедансного метода и ДЭХА у 379 госпитализированных пациентов пожилого возраста. Для сравнения методов использовали парные *t*-критерии, график Бланда—Альтмана и коэффициент внутригрупповой корреляции. Данные показали недооценку значений (биоимпедансный метод диагностики по сравнению с ДЭХА) массы свободного жира (женщины: –0,97 кг, $p<0,01$; мужчины: –1,99 кг; $p<0,01$), а также завышенную оценку обоих показателей массы жира (женщины: +1,11 кг; $p<0,01$; мужчины: +1,67 кг; $p<0,01$) и процентного содержания телесного жира (женщины: +2,07%, $p<0,01$; мужчины: +2,82%, $p<0,01$). Биоимпедансный метод диагностики занизил показатели массы свободного жира и завысил показатели массы жира, а также процентное содержание жира в организме у пациентов 75–85 лет, у пациентов с общим содержанием воды в организме <60%, у пациентов с недостаточной массой тела и нормальной массой, а также у пациентов с саркопенией ($p<0,01$). Результаты внутриклассового коэффициента свидетельствуют о плохой воспроизводимости между биоимпедансным методом диагностики и ДЭХА для массы свободного жира (женщины: +0,197; мужчины: +0,250) и массы жира (женщины: +0,141; мужчины +0,144). С одной стороны, биоимпедансный метод является хорошей альтернативой для оценки массы свободного жира и массы жира только у пациентов с избыточной массой тела или ожирением, а также у пациентов с хорошим гидратационным статусом. С другой стороны, биоимпедансный метод диагностики не является точным методом оценки массы свободного жира у пациентов с саркопенией.

Ключевые слова: *биоимпедансный метод диагностики, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, саркопения, гидратация, композиционный состав тела, старение*

© М. Н. Юрова, 2019
УДК 616-006-08-053.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1034–1038

М. Н. Юрова

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРНЫХ ПРЕПАРАТОВ-ИНГИБИТОРОВ *mTOR* В ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ*

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова, 197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, e-mail: yumarni@gmail.com

В обзоре рассмотрены экспериментальные и клинические данные последних десятилетий о применении геропротекторных препаратов группы ингибиторов *mTOR* для основного и сопроводительного лечения онкологических пациентов. Протеинкиназа *mTOR* представляет собой интересную терапевтическую мишень для лечения множественных видов рака как с помощью самих ингибиторов *mTOR* (рапамицина и его производных), так и в комбинации с ингибиторами других путей (например, метформина). Ингибиторы *mTOR*, не являясь классическими цитостатиками и не обладая канцерогенной активностью, имеют большие перспективы использования как в качестве самостоятельных противоопухолевых агентов, так и для применения в сочетании с конвенциональной химиотерапией.

Ключевые слова: mTOR, рапамицин, рапалог, метформин, геропротектор, канцерогенез

Цитоплазматический протеин киназа *mTOR*, являясь интегральным компонентом сигнального пути *PI3/AKT*, играет ключевую роль в регуляции клеточной пролиферации и метаболизма, аутофагии и ряда функций, связанных с клеточным ростом и выживанием [27, 52]. Установлено, что *mTOR*-зависимые гиперфункции, сигнальная устойчивость, гипертрофия, гипермитогенное возбуждение в сочетании с потерей регенеративного потенциала являются маркерами клеточного старения. Клеточное старение в клеточной культуре может быть вызвано с помощью активации *mTOR* [11, 12]. Ингибитор *mTOR* рапамицин является первым фармакологическим агентом, для которого было показано, что он увеличивает продолжительность жизни млекопитающих [25]. В дальнейшем этот эффект был многократно подтвержден в различных экспериментальных моделях [5, 6, 8, 36, 62].

Известно, что опухолевые клетки характеризуются нарушением регуляции *PI3/AKT* пути, что делает их более чувствительными к ингибированию *mTOR* [7, 22]. Таким образом, *mTOR* представляет собой интересную терапевтическую мишень для лечения множественных видов рака как с помощью самих ингибиторов *mTOR* (рапамицина и его производных), так и в комбинации с ингибиторами других путей. Доказано, что рапалоги (рапамицин и его аналоги) в соответствующих концентрациях не являются токсичными препаратами: они не убивают клетки, а, скорее, замедляют их рост, что является преимуществом для противораковых и антивозрастных средств.

Ингибиторы *mTOR* могут регулировать рост опухоли прямо и косвенно. Прямое воздействие этих факторов на раковые клетки зависит от концентрации лекарственного средства и определенных клеточных характеристик. Косвенный путь основан на взаимодействии с процессами, необходимыми для ангиогенеза опухолей [58].

К настоящему моменту показано, что применение препаратов, снижающих активность *mTOR*, оказывает противоопухолевое действие при нейроэндокринных опухолях, раке молочной железы, гепатоцеллюлярной карциноме, саркоме, *B*-клеточной лимфоме и др. [46]. Использование *mTOR* ингибиторов (рапалогов) способствовало ремиссии *TSC*-опухолей, подавляло развитие кожной саркомы Капоши у пациентов после пересадки почек. Рапамицин, угнетая ангиогенез, оказался эффективным противоопухолевым препаратом в комбинации с другими цитостатиками [13]. В ряде экспериментов показана способность рапамицина угнетать химически индуцированный канцерогенез [20, 21, 39]. Имеется ряд данных о противоопухолевом эффекте рапамицина у мышей

* Публикация подготовлена при поддержке гранта РНФ № 17-75-10112.

различных линий [5, 6, 44]. Эверолимус (рапалог) увеличивает выживаемость без прогрессии у пациентов с метастатической почечно-клеточной карциномой, которая прогрессировала на фоне других способов лечения [41].

Рапалоги были широко протестированы в комбинации с моноклональными антителами, нацеленными на факторы роста или рецепторы, такие как далотузумаб (anti-*IGF1R*), цетуксимаб (анти-*EGFR*), бевацизумаб (анти-*VEGFα*), и ингибиторы тирозинкиназы, такие как сунитиниб, сорафениб и ингибитор *PI3K BYL*-719. Комбинация эверолимуса с трастузумабом и винорелбином значительно продлевает выживаемость без прогрессирования у пациентов с резистентностью к трастузумабу и предварительно обработанным таксаном, *HER2*-положительным, прогрессирующим раком молочной железы [1]. Комбинация темсиролимуса (рапалог) и бевацизумаба продемонстрировала значительную активность и приемлемую переносимость в нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы в многоцентровом исследовании II фазы [28].

В ходе клинических исследований было показано, что продолжительное применение рапамицина и его аналогов (эверолимус, темсиролимус), помимо противоопухолевого и имунносупрессивного действия, приводило к ряду побочных эффектов, в том числе гиперлипидемии, гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии, непереносимости глюкозы, инсулинорезистентности и диабету [19, 32, 53, 57].

Антидиабетический бигуанид метформин является одним из наиболее широко предписываемых пероральных гипогликемических препаратов и в последнее время получил повышенное внимание за его противоопухолевый потенциал [10, 17, 18]. Показано, что применение метформина, стимулируя активность *AMPK*, ингибирует *mTOR* [48], тормозит рост клеток опухоли яичника (*SKOV3*) и развитие спонтанных и индуцируемых химическими канцерогенами опухолей у грызунов, увеличивает продолжительность их жизни [2–4]. Метформин подавляет клеточный рост девяти видов мезотелиомы, включая иммортализованные клетки мезотелиального происхождения [50].

Имеются данные о том, что сочетание рапамицина и метформина значительно усиливает эффект отдельного применения препаратов у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, существенно тормозя рост опухоли и увеличивая продолжительность жизни [49]. Комбинированное применение метформина и рапамицина усиливает противоопухолевый эффект монотерапии данными препаратами на модели рака предстательной железы у мышей *HiMyc* [47], модели перевиваемого рака поджелудочной железы у страдающих ожирением преддиабетических мышей *C57BL/6* [16]. Сочетание эверолимуса и метформина тормозило развитие рака молочной железы *in vitro* [61].

Имеются многочисленные данные о том, что ингибиторы *mTOR* защищают нормальные клетки (без мутаций в гене *p53*) от воздействия необратимых ингибиторов митоза (цитостатиков) путем обратимой остановки клеток в *G1*- и *G2*-фазах клеточного цикла [15, 54, 56]. Таким образом, осуществляется селективная защита нормальных клеток, но не опухолевых, имеющих мутации в гене *p53* [7, 33, 34]. Стоит отметить, что ингибирование *mTOR* усиливает противовоспалительную активность регуляторных *T*-клеток и уменьшает выработку провоспалительных цитокинов макрофагами в ответ на химиотерапевтическое воздействие, оказывая защитный эффект на ткани [9, 51].

Применение рапамицина тормозит пролиферацию и усиливает апоптоз, индуцированный паклитакселом, на клеточных линиях рака молочной железы, эндометрия, толстой кишки [13, 40, 66]. Аддитивный эффект эверолимуса на цитотоксический эффект паклитаксела был показан на устойчивой к гефинитибам модели анапластического рака щитовидной железы *in vitro* [42]. В ряде клинических исследований также был показан синергический ингибирующий эффект рапалогов и паклитаксела на рост солидных опухолей, рака эндометрия и молочной железы [14, 30].

Комбинации рапамицина или его аналогов с доксорубицином оказывают аддитивные противоопухолевые эффекты на модели печеночно-клеточной карциномы и клеточных линиях глиобластомы человека [31, 43]. Применение комбинации рапалога эверолимуса и сорафениба, в отличие от монотерапии этими препаратами, значительно снижает численность и размеры солидных опухолей почки [64]. Ингибитор *mTOR* темсиролимус усиливает действие цисплатина против мезотелиомы *in vitro* и *in vivo* [29]. Сочетанное воздействие рапамицина и вемурафениба усиливает гибель клеток метастатического рака щитовидной железы [23].

Известно, что фармакологическое снижение уровня глюкозы и инсулина с помощью антидиабетических препаратов, в том числе метформина, уменьшает побочные эффекты химиотерапии.

В недавних работах было показано, что комбинированная терапия метформином и цисплатином является эффективным методом лечения немелкоклеточного рака легкого [63], ингибирует рост и ангиогенез ксенотрансплантатов рака мочевого пузыря *BIU*-87 [59]. Показано, что метформин повышал чувствительность клеток внутрипеченочной холангиокарциномы к некоторым химиотерапевтическим агентам (сорафениб, 5-фторурацил и *As*2*O*3) [37], снижал резистентность к трастузумабу *erbB*2-сверхэкспрессирующих клеток рака молочной железы [38]. Добавление метформина усиливало противоопухолевый эффект рапамицина и цисплатина в *in vitro* модели рака желудка [65].

К настоящему времени противоопухолевая эффективность ингибиторов *mTOR* показана для широкого спектра опухолей: лимфом [35], эндокринных опухолей [21], рака мочевого пузыря [26], рака молочной железы [24] и колоректального рака [60].

В качестве ведущего противоопухолевого механизма действия для препаратов данного класса показана их способность сенсибилизировать раковые клетки к апоптозу, временно оказывая протективный эффект на здоровые клетки [7, 45, 55].

Таким образом, ингибиторы *mTOR*, не являясь классическими цитостатиками и не обладая канцерогенной активностью, имеют большие перспективы использования как самостоятельные противоопухолевые агенты, так и в сочетании с конвенциональной химиотерапией.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Andre F., O'Regan R., Ozguroglu M. et al.* Everolimus for women with trastuzumab-resistant, HER2-positive, advanced breast cancer (BOLERO-3): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial // Lancet Oncol. 2014. Vol. 15. P. 580–591.

2. *Anisimov V.N.* Metformin for Prevention and Treatment of Colon Cancer: A Reappraisal of Experimental and Clinical Data // Curr. Drug Targets. 2016. Vol. 17. № 4. P.439–446.

3. *Anisimov V.N., Berstein L.M., Egormin P.A.* et al. Metformin slows down aging and extends life span of female SHR mice // Cell Cycle. 2008. Vol. 7. № 17. P. 2769–2773.

4. *Anisimov V.N., Egormin P.A., Bershtein L.M. et al.* Metformin decelerates aging and development of mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice // Bull. Exp. Biol. Med. 2005. Vol. 139. № 6. P. 721–723.

5. *Anisimov V.N., Zabezhinski M.A., Popovich I.G. et al.* Rapamycin extends maximal lifespan in cancer-prone mice // Amer. J. Pathol. 2010. Vol. 176. № 5. P. 2092–2097.

6. *Anisimov V.N., Zabezhinski M.A., Popovich I.G. et al.* Rapamycin increases lifespan and inhibits spontaneous tumorigenesis in inbred female mice // Cell Cycle. 2011. Vol. 10. № 24. P. 4230–4236.

7. *Apontes P., Leontieva O.V., Demidenko Z.N. et al.* Exploring long-term protection of normal human fibroblasts and epithelial cells from chemotherapy in cell culture // Oncotarget. 2011. Vol. 2. P. 222–233.

8. *Arriola Apelo S.I., Lamming D.W.* Rapamycin: An InhibiTOR of Aging Emerges From the Soil of Easter Island // J. Geront. A Biol. Sci. Med. Sci. 2016. Vol. 71. № 7. P. 841–849.

9. *Bent E.H., Gilbert L.A., Hemann M.T.* A senescence secretory switch mediated by PI3K/AKT/mTOR activation controls chemoprotective endothelial secretory responses // Genes Dev. 2016. Vol. 30. № 16. P. 1811–1821.

10. *Berstein L.M., Vasilyev D.A., Iyevleva A.G. et al.* Potential and real 'antineoplastic' and metabolic effect of metformin in diabetic and nondiabetic postmenopausal females // Future Oncol. 2015. Vol. 11. № 5. P. 759–770.

11. *Blagosklonny M.V.* Answering the ultimate question «What is the proximal cause of aging?» // Aging (Albany NY). 2012. Vol. 4. № 12. P. 861–877.

12. *Blagosklonny M.V.* Cell cycle arrest is not yet senescence, which is not just cell cycle arrest: terminology for TOR-driven aging // Aging (Albany NY). 2012. Vol. 4. № 3. P. 159–165.

13. *Blagosklonny M.V., Darzynkiewicz Z.* Cyclotherapy: Protection of Normal Cells and Unshielding of Cancer Cells // Cell Cycle. 2002. Vol. 1. № 6. P. 375–382.

14. *Campone M., Levy V., Bourbouloux E. et al.* Safety and pharmacokinetics of paclitaxel and the oral mTOR inhibitor everolimus in advanced solid tumours // Brit. J. Cancer. 2009. Vol. 100. № 2. P. 315–321.

15. *Chatterjee A., Mukhopadhyay S., Tung K. et al.* Rapamycin-induced G1 cell cycle arrest employs both TGF-β and Rb pathways // Cancer Lett. 2015. Vol. 360. № 2. P. 134–140.

16. *Cifarelli V., Lashinger L.M., Devlin K.L. et al.* Metformin and Rapamycin Reduce Pancreatic Cancer Growth in Obese Prediabetic Mice by Distinct MicroRNA-Regulated Mechanisms // Diabetes. 2015. Vol. 64. № 5. P. 1632–1642.

17. *Currie C.J., Poole C.D., Gale E.A.* The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes // Diabetologia. 2009. Vol. 52. № 9. P. 1766–1777.

18. *Evans J.M., Donnelly L.A., Emslie-Smith A.M. et al.* Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients // Brit. med. J. 2005. Vol. 330. № 7503. P. 1304–1305.

19. *Fiebrich H.B., Siemerink E.J., Brouwers A.H. et al.* Everolimus induces rapid plasma glucose normalization in insulinoma patients by effects on tumor as well as normal tissues // Oncologist. 2011. Vol. 16. P. 783–787.

20. *Granville C.A., Warfel N., Tsurutani J. et al.* Identification of a Highly Effective Rapamycin Schedule that Markedly Reduces the Size, Multiplicity, and Phenotypic Progression of Tobacco Carcinogen–Induced Murine Lung Tumors // Clin. Cancer Res. 2007. Vol. 13. № 7. P. 2281–2289.

21. *Grozinsky-Glasberg S., Shimon I.* The potential role of mTOR inhibitors in the treatment of endocrine tumors // J. Endocr. Invest. 2010. Vol. 33. № 4. P. 276–281.

22. *Guertin D.A., Sabatini D.M.* Defining the role of mTOR in cancer // Cancer Cell. 2007. Vol. 12. P. 9–22.

23. *Hanly E.K., Bednarczyk R.B., Tuli N.Y. et al.* mTOR inhibitors sensitize thyroid cancer cells to cytotoxic effect of vemurafenib // Oncotarget. 2015. Vol. 6. № 37. P. 39702–39713.

24. *Hare S.H., Harvey A.J.* mTOR function and therapeutic targeting in breast cancer // Amer. J. Cancer Res. 2017. Vol. 7. № 3. P. 383–404.

25. *Harrison D.E., Strong R., Sharp Z.D. et al.* Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice // Nature. 2009. Vol. 460. № 7253. P. 392–395.

26. *Hau A.M., Nakasaki M., Nakashima K. et al.* Differential mTOR pathway profiles in bladder cancer cell line subtypes to predict sensitivity to mTOR inhibition // Urol. Oncol. 2017. Vol. 17. P. 30134–30135.

27. *Hay N., Sonenberg N.* Upstream and downstream of mTOR // Genes Dev. 2004. Vol. 18. № 16. P. 1926–1945.

28. *Hobday T.J., Qin R., Reidy-Lagunes D. et al.* Multicenter Phase II Trial of Temsirolimus and Bevacizumab in Pancreatic

Neuroendocrine Tumors // J. clin. Oncol. 2015. Vol. 33. P. 1551–1556.

29. Hoda M.A., Mohamed A., Ghanim B. et al. Temsirolimus inhibits malignant pleural mesothelioma growth in vitro and in vivo: synergism with chemotherapy // J. thorac. Oncol. 2011. Vol. 6. № 5. P. 852–863.

30. Hurvitz S.A., Dalenc F., Campone M. et al. A Phase 2 study of everolimus combined with trastuzumab and paclitaxel in patients with HER2-overex-pressing advanced breast cancer that progressed during prior trastuzumab and taxane therapy // Breast Cancer Res. Treat. 2013. Vol. 141. P. 437–446.

31. Iorio A.L., Da Ros M., Pisano C. et al. Combined Treatment with Doxorubicin and Rapamycin Is Effective against In Vitro and In Vivo Models of Human Glioblastoma // J. clin. Med. 2019. Vol. 8. № 3. P. 331.

32. Johnston O., Rose C.L., Webster A.C., Gill J.S. Sirolimus is associated with new-onset diabetes in kidney transplant recipients // J. Amer. Soc. Nephrol. 2008. Vol. 19. P. 1411–1418.

33. Kangwan N., Park J.M., Kim E.H., Hahm K.B. Chemoquiescence for ideal cancer treatment and prevention: where are we now? // J. Cancer Prev. 2014. Vol. 19. № 2. P. 89–96.

34. Kranz D., Dobbelstein M. A killer promoting survival — p53 as a selective means to avoid side effects of chemotherapy // Cell Cycle. 2012. Vol. 11. № 11. P. 2053–2054.

35. Lee J.S., Vo T.T., Fruman D.A. Targeting mTOR for the treatment of B cell malignancies // Brit. J. clin. Pharmacol. 2016. Vol. 82. № 5. P. 1213–1228.

36. Leontieva O.V., Paszkiewicz G.M., Blagosklonny M.V. Weekly administration of rapamycin improves survival and biomarkers in obese male mice on high-fat diet // Aging Cell. 2014. Vol. 13. № 4. P. 616–622.

37. Ling S., Feng T., Ke Q. et al. Metformin inhibits proliferation and enhances chemosensitivity of intrahepatic cholangiocarcinoma cell lines // Oncol. Rep. 2014. Vol. 31. № 6. P. 2611–2618.

38. Liu B., Fan Z., Edgerton S.M. et al. Potent anti-proliferative effects of metformin on trastuzumab-resistant breast cancer cells via inhibition of erbB2/IGF-1 receptor interaction // Cell Cycle. 2011. Vol. 10. № 17. P. 2959–2966.

39. Mabuchi S., Hisamatsu T., Kimura T. Targeting mTOR signaling pathway in ovarian cancer // Curr. Med. Chem. 2011. Vol. 18. № 19. P. 2960–2968.

40. Mondesire W.H., Jian W., Zhang H. et al. Targeting mammalian target of rapamycin synergistically enhances chemotherapy-induced cytotoxicity in breast cancer cells // Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 10. № 20. P. 7031–7042.

41. Motzer R.J., Escudier B., Oudard S. et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double blind, randomised, placebo-controlled phase III trial // Lancet. 2008. Vol. 372. P. 449–456.

42. Onoda N., Nakamura M., Aomatsu N. et al. Significant cytostatic effect of everolimus on a gefitinib-resistant anaplastic thyroid cancer cell line harboring PI3KCA gene mutation // Molec. clin. Oncol. 2015. Vol. 3. № 3. P. 522–526.

43. Piguet A.C., Semela D., Keogh A. et al. Inhibition of mTOR in combination with doxorubicin in an experimental model of hepatocellular carcinoma // J. Hepat. 2008. Vol. 49. P. 78–87.

44. Popovich I.G., Anisimov V.N., Zabezhinski M.A. et al. Lifespan extension and cancer prevention in HER-2/neu transgenic mice treated with low intermittent doses of rapamycin // Cancer Biol. Ther. 2014. Vol. 15. № 5. P. 586–592.

45. Rao B., Lain S., Thompson A.M. p53-Based cyclotherapy: exploiting the 'guardian of the genome' to protect normal cells from cytotoxic therapy // Brit. J. Cancer. 2013. Vol. 109. P. 2954–2958.

46. Sabatini D.M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing // Nat. Rev. molec. Cell Biol. 2011. Vol. 12. P. 21–35.

47. Saha A., Blando J., Tremmel L., DiGiovanni J. Effect of Metformin, Rapamycin, and Their Combination on Growth and Progression of Prostate Tumors in HiMyc Mice // Cancer Prev. Res. (Phila). 2015. Vol. 8. № 7. P. 597–606.

48. Shaw R.J., Lamia K.A., Vasquez D. et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin // Science. 2005. Vol. 310. № 5754. P. 1642–1646.

49. Shen Ch., Peng Ch., Shen B. et al. Sirolimus and metformin synergistically inhibit hepatocellular carcinoma cell proliferation and improve long-term survival in patients with HCC related to hepatitis B virus induced cirrhosis after liver transplantation // Oncotarget. 2016. Vol. 7. № 38. P. 62647–62656.

50. Shimazu K., Tada Y., Morinaga T. et al. Metformin produces growth inhibitory effects in combination with nutlin-3a on malignant mesothelioma through a cross-talk between mTOR and p53 pathways // BMC Cancer. 2017. Vol. 17. № 1. P. 309.

51. Song Y., Xue H., Liu T.T. et al. Rapamycin plays a neuroprotective effect after spinal cord injury via anti-inflammatory effects // J. Biochem. molec. Toxicol. 2015. Vol. 29. № 1. P. 29–34.

52. Stanfel M.N., Shamieh L.S., Kaeberlein M., Kennedy B.K. The TOR pathway comes of age // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1790. P. 1067–1074.

53. Trelinska J., Dachowska I., Kotulska K. et al. Complications of mammalian target of rapamycin inhibitor anticancer treatment among patients with tuberous sclerosis complex are common and occasionally life-threatening // Anticancer Drugs. 2015. Vol. 26. P. 437–442.

54. Van Leeuwen I.M. Cyclotherapy: opening a therapeutic window in cancer treatment // Oncotarget. 2012. Vol. 3. P. 596– 600.

55. Van Leeuwen I.M., Lain S. Pharmacological manipulation of the cell cycle and metabolism to protect normal tissues against conventional anticancer drugs // Oncotarget. 2011. Vol. 2. № 4. P. 274–276.

56. Van Leeuwen I.M., Rao B., Sachweh M.C., Laín S. An evaluation of small-molecule p53 activators as chemoprotectants ameliorating adverse effects of anticancer drugs in normal cells // Cell Cycle. 2012. Vol. 11. № 9. P. 1851–1861.

57. Vergès B., Cariou B. mTOR inhibitors and diabetes // Diabetes Res. Clin. Pract. 2015. Vol. 110. P. 101–108. doi: 10.1016/j.diabres.2015.09.014

58. Vignot S., Faivre S., Aguirre D., Raymond E. mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives // Ann. Oncol. 2005. Vol. 16. № 4. P. 525–537.

59. Wang D., Wu X. In vitro and in vivo targeting of bladder carcinoma with metformin in combination with cisplatin // Oncol. Lett. 2015. Vol. 10. № 2. P. 975–981.

60. Wang X.W., Zhang Y.J. Targeting mTOR network in colorectal cancer therapy // WId J. Gastroenterol. 2014. Vol. 20. № 15. P. 4178–4188.

61. Wang Y., Wei J., Li L. et al. Combined Use of Metformin and Everolimus Is Synergistic in the Treatment of Breast Cancer Cells // Oncol. Res. 2014. Vol. 22. № 4. P. 193–201.

62. Wilkinson J.E., Burmeister L., Brooks S.V. et al. Rapamycin slows aging in mice // Aging Cell. 2012. Vol. 11. № 4. P. 675–682.

63. Xiong Y., Zhao Y., Miao L. et al. Co-delivery of polymeric metformin and cisplatin by self-assembled core-membrane nanoparticles to treat non-small cell lung cancer // J. Control Release. 2016. Vol. 244. P. 63–73.

64. Yang J., Samsel P.A., Narov K. et al. Combination of Everolimus with Sorafenib for Solid Renal Tumors in Tsc2 +/- Mice Is Superior to Everolimus Alone // Neoplasia. 2017. Vol. 19. № 2. P. 112–120.

65. Yu G., Fang W., Xia T. et al. Metformin potentiates rapamycin and cisplatin in gastric cancer in mice // Oncotarget. 2015. Vol. 6. № 14. P. 12748–12762.

66. Zou H., Li L., Garcia Carcedo I. et al. Synergistic inhibition of colon cancer cell growth with nanoemulsion-loaded paclitaxel and PI3K/mTOR dual inhibitor BEZ235 through apoptosis // Int. J. Nanomed. 2016. Vol. 11. P. 1947–1958.

Поступила в редакцию 14.05.2019
После доработки 02.09.2019
Принята к публикации 23.09.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1034–1038

M. N. Yurova

GEROPROTECTIVE DRUGS — mTOR INHIBITORS IN THE TREATMENT OF CANCER PATIENTS

N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, 68 Leningradskaya str., Pesochny, St. Petersburg 197758, e-mail: yumarni@gmail.com

The review describes the experimental and clinical data of the last decades on the use of geroprotective preparations of *mTOR* inhibitors group for the main and accompanying treatment of cancer patients. *mTOR* protein kinase is an perspective therapeutic target for the treatment of multiple cancers, both with the *mTOR* inhibitors themselves (rapamycin and its derivatives) and in combination with inhibitors of other pathways (for example, metformin). The *mTOR* inhibitors, not being classical cytostatics and not having carcinogenic activity, have great prospects for use both as independent antitumor agents and for use in combination with conventional chemotherapy.

Key words: *mTOR, rapamycin, rapalog, metformin, geroprotector, carcinogenesis*

© Коллектив авторов, 2019
УДК 616.12-008.46:616.74-007.23-073.432.19-053.9

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1039–1044

Н. И. Гуляев, И. М. Ахметшин, А. В. Гордиенко, А. Н. Куликов

ВОЗМОЖНОСТИ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДИАГНОСТИКИ САРКОПЕНИИ У БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6, e-mail: nig27@mail.ru

В работе представлены результаты исследования возможности ультразвуковой диагностики саркопении у лиц пожилого и старческого возраста, страдающих ХСН. Всем пациентам (63 человека, средний возраст 77,2±7,7 года) была проведена двуэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия. Саркопения диагностирована у 31 больного (FNIH sarcopenia project, 2014 г.). Проведена оценка площади мышц плеча (*m. biceps brachii*), бедра (*m. rectus femoris*) и трех мышц предплечья (*m. brachioradialis, m. extensor carpi radialis longus, m. extensor carpi radialis brevis*). Путем выполнения множественного линейного регрессионного анализа предложены две ультразвуковые модели диагностики саркопении с диагностической точностью 92 и 93,6%. Модели основываются на сумме площадей мышц конечностей с поправкой на пол, рост и массу тела.

***Ключевые слова:** двуэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, ультразвуковое исследование мышц, мышечная масса, саркопения, сердечная недостаточность*

Саркопения — универсальный клинический синдром, характеризующийся патологическим снижением массы и функции (силы и работоспособности) скелетной мускулатуры, ассоциированный со старением и/или хроническими заболеваниями.

Распространенность саркопении у лиц пожилого и старческого возраста с различной соматической патологией весьма высока, особенно это касается пациентов с ХСН. Так, S. Fülster и соавт. выявили саркопению у 19,5% пациентов из 200 больных ХСН [9]. Учитывая широкую распространенность тяжелой ХСН у населения РФ (4,1%) и тот факт, что $^2/_3$ из этих пациентов старше 60 лет, можно ожидать, что признаки саркопении будут выявляться примерно у 1 млн больных ХСН [3, 4].

При наблюдении за группой из 2 815 человек пожилого и старческого возраста D. E. Forman и соавт. показали, что вновь развившаяся ХСН приводила к большей потере мышечной массы в динамике по сравнению с лицами, у которых сердечная недостаточность не развивалась [8]. Напротив, трансплантация сердца у больных с тяжелой ХСН и саркопенией способствовала увеличению мышечной массы на 11,7% и показателей кистевой динамометрии на 10,5% в течение 3 лет наблюдения [7]. Таким образом, диагностика саркопении у больных ХСН важна как с точки зрения косвенной оценки тяжести течения соматической патологии, так и с позиции оценки эффективности лечения и дальнейшего прогноза [10]. Этот же тезис можно с уверенностью распространить и на такие заболевания, как ХОБЛ, цирроз печени, тяжелые неврологические расстройства [1].

Между тем, существующие методы выявления саркопении, а к ним в первую очередь относят денситометрию как «золотой стандарт» диагностики [6], сравнительно малодоступны и редко используются в повседневной клинической практике. Это и неудивительно — оценка мышечной массы не входит в существующие клинические стандарты обследования больных. Не может быть и речи о рутинном применении для этой цели рентгеновских компьютерных или магнитно-резонансных томографов, так как это не только резко удорожает обследование, но и предполагает дополнительную лучевую или экспозиционную нагрузку на пациента. При этом для суждения о мышечной массе вышеперечисленные методы чаще всего используют данные о площади поперечного сечения мышц тела на уровне L_{III}, что позволяет лишь косвенно судить о мышечной массе в целом. Но если не существует идеально удобного инструментального метода оценки саркопении, почему бы не сделать ее диагностику хотя бы более доступной?

С этой точки зрения широко распространенные и доступные ультразвуковые аппараты дают потенциальную альтернативу дорогим лучевым методикам. Ведь качество получаемого среза мышечной ткани и возможность его количественной

оценки принципиально не отличаются, различия кроются лишь в том, какие срезы доступны для УЗИ. Не удивительно, что возможностям ультразвуковой диагностики саркопении посвящено много исследований за рубежом, включая довольно объемные обзоры по данной теме [12]. К сожалению, нам не удалось обнаружить отечественных работ, посвященных этой проблеме. Поэтому нам представляется весьма актуальной разработка и внедрение в клиническую практику доступного ультразвукового метода определения мышечной массы тела, что будет способствовать улучшению диагностики и своевременному лечению саркопении у пациентов разного профиля.

Цель работы — исследовать возможность УЗИ мышц конечностей в оценке аппендикулярной тощей массы и диагностике саркопении у лиц пожилого и старческого возраста с ХСН.

Материалы и методы

Обследованы 63 больных (31 мужчина и 32 женщины) 60–92 лет с ХСН (средний возраст 77,2±7,7 года). У 31 пациента диагностирована саркопения (FNIH, 2014 г.). ХСН установлена в соответствии с критериями, рекомендованными Российским кардиологическим обществом в 2017 г. [2]. Критерии исключения: перенесенные мозговые инсульты с пара- или гемипарезом конечностей; парезы конечностей; нейромышечные заболевания; ампутации конечностей; злокачественные новообразования.

Исследование было одобрено независимым этическим комитетом при Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова (протокол № 200 от 23.01.2018 г.).

Исходно всем больным ХСН, находящимся в состоянии удовлетворительной компенсации, была выполнена двуэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (ДРА) с определением аппендикулярной тощей массы (АТМ) на костном денситометре «GE iDXA» (США) в режиме Total body.

Для диагностики саркопении использовали так называемые критерии FNIH Sarcopenia project [14], так как при сравнении с европейскими диагностическими критериями EWGSOP [6] они обладают большей вариативностью и ориентированностью в отношении клинической картины [11]. АТМ вычисляли путем суммирования мышечных масс конечностей. Её абсолютные и относительные значения (соотнесенные к ИМТ) использовали для диагностики саркопении. Использовали количественные критерии диагностики саркопении согласно FNIH Sarcopenia project (2014): АТМ/ИМТ<0,789 и/или АТМ<19,75 кг у мужчин и АТМ/ИМТ<0,512 и/или АТМ<15,02 кг у женщин.

В день проведения ДРА всем пациентам выполняли УЗИ мышц конечностей с подсчетом величин, указанных в *рис. 1, 2, 3* (см^2). Исследование мышц выполнено на ультразвуковой диагностической системе «Philips CX-50» («Philips Ultrasound, Inc.», Нидерланды) с использованием линейного датчика с частотой 3–12 МГц и длиной 39 мм.

Далее результаты денситометрии, УЗИ мышц и антропометрии анализировали в составе общей статистической базы данных с расчетом уравнений множественной линейной регрессии, где в качестве результирующего признака выступала

Рис. 1. Площадь поперечного сечения m. biceps brachii (кисть в положении супинации)

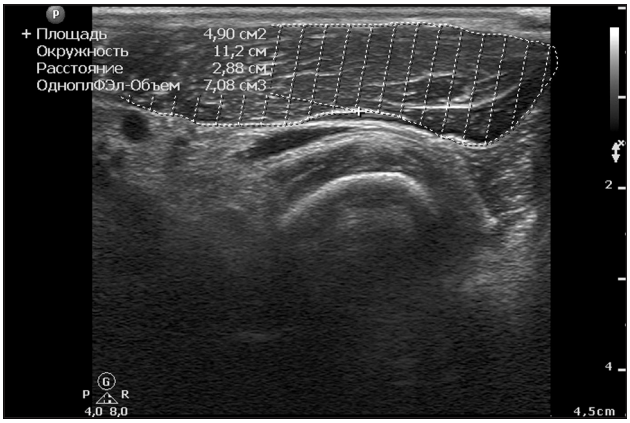


Рис. 2. Площадь поперечного сечения мышц задней группы предплечья (m. brachioradialis, m. extensor carpi radialis longus и m. extensor carpi radialis brevis) на уровне верхней трети предплечья (ниже на 2–3 см локтевого сгиба, кисть в положении пронации)

аппендикулярная тощая масса при денситометрии. По итогам анализа разработаны две альтернативных регрессионных модели расчета аппендикулярной тощей массы на основе данных УЗИ мышц и антропометрии.

Принцип оригинального ультразвукового метода диагностики саркопении заключался в том, что площадь поперечного сечения мышц при ультразвуковом сканировании должна отражать их массу при поправках на пол, массу тела и рост пациента.

Методика проведения УЗИ мышц. Перед исследованием пациентам не проводили нагрузочные тестирования и не подвергали иным физическим нагрузкам. Исследование проводили в положении лежа на кушетке.

При УЗИ бицепса верхняя конечность находилась в выпрямленном расслабленном положении, кисть в положении супинации. Для оценки толщины и площади поперечного сечения была выбрана точка, делящая пополам расстояние от локтевого сгиба до передней подмышечной складки. Давление УЗ-датчиком оказывали с минимальной силой за счет обильного слоя ультразвукового геля. Осуществляли строго перпендикулярное положение датчика относительно оси плеча. В той же точке оценивали площадь поперечного сечения только *m. biceps brachii* (см. рис. 1). При этом допускалось оказывать датчиком давление, необходимое для захвата всей площади поперечного сечения бицепса (см. рис. 1). Все измерения производили трехкратно с фиксацией среднего показателя.

При УЗИ мышц предплечья верхняя конечность находилась в расслабленном выпрямленном состоянии, кисть в положении пронации, не собранная в кулак. УЗ-датчик устанавливали строго перпендикулярно длинной оси и поперечно длиннику предплечья на 2—3 см ниже локтевого сгиба. Оценивали площадь поперечного сечения мышц задней группы предплечья: *m. brachioradialis*, *m. extensor carpi radialis longus* и *m. extensor carpi radialis brevis*, которые представляли собой при сканировании одну мышцу (см. рис. 2).

Исследование мышц нижних конечностей проводили на уровне средней трети бедра. Ориентиром служила точка, находящаяся посередине расстояния от передневерхней ости подвздошной кости до верхнего полюса надколенника, где оценивали площадь *m. rectus femoris* (см. рис. 3).

Статистический анализ полученных данных проводили с применением пакета прикладных статистических программ Statistica 10.0

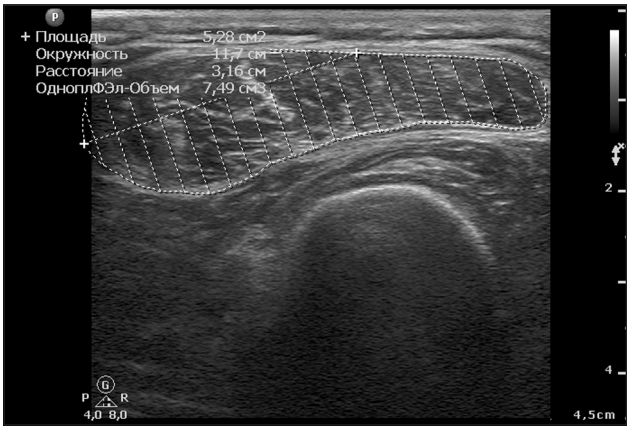


Рис. 3. Площадь поперечного сечения m. rectus femoris на уровне середины расстояния от передневерхней ости подвздошной кости до верхнего полюса надколенника

(«StatSoft Inc.», США). Проводили множественный линейный регрессионный анализ с проверкой на мультиколлинеарность, для оценки корректности полученной модели проводили анализ остатков и построение графика Блэнда—Альтмана. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В *табл. 1* приведены данные антропометрии у обследованных пациентов и композитного состава их тела по итогам денситометрии. Из данных таблицы следует, что все больные ХСН были пожилого и старческого возраста, большинство имели среднюю массу тела и рост ниже среднего, но ИМТ в среднем соответствовал верхней границе нормы либо повышенной массе тела (38 % имели ИМТ>30 кг/м^2). При этом саркопения обнаружена у 31 (49,2 %) обследуемого. Таким образом,

Таблица 1

Усредненные данные антропометрии и композитного состава тела у обследованных пациентов, *n*=63 (*M*±*SD*)

Параметр	Показатели
Возраст, годы	77,2±7,7
Масса тела, кг	76,7±16,4
Рост, см	164±9,8
ИМТ, кг/м^2	28,5±5,8
Окружность талии, см	98,5±14,0
Аппендикулярная тощая масса, кг	19,5±4,4
Жировая масса общая, кг	29,7±10,7
Относительная масса жира, %	37,8±8,4

Таблица 2

Уравнения множественной линейной регрессии определения величины аппендикулярной мышечной массы по результатам УЗИ мышц конечностей

	Формула для расчета АТМ	r	R^2	Скор. R^2	Std. er.	CC
1	$6{,}0+(-1{,}767)\cdot Sex+0{,}119\cdot M+0{,}121\cdot S_{b+h+f}\cdot H$	0,961	0,925	0,921	1,24	–0,0017
2	$6{,}823+(-2{,}117)\cdot Sex+0{,}127\cdot M+0{,}162\cdot S_{b+f}\cdot H$	0,963	0,929	0,925	1,20	0,0000

Примечание. Здесь и в табл. 3: АТМ — аппендикулярная тощая масса, кг; Sex — пол (1 — мужской; 2 — женский); M — масса тела, кг; H — рост, м; S — площадь поперечного сечения мышцы, см^2; S_b — площадь бицепса; S_h — площадь мышц предплечья; S_f — площадь прямой мышцы бедра; r — коэффициент корреляции Пирсона; R^2 — коэффициент детерминации; Скор. R^2 — скорректированный коэффициент детерминации; Std. er. (standart error of estimate) — стандартная ошибка; CC — систематическое смещение (расхождение, ошибка).

Таблица 3

Диагностическая точность альтернативных моделей диагностики саркопении на основе УЗИ, %

	Формула для расчета АТМ	Чувствительность	Специфичность	Точность
1	$6{,}0+(-1{,}767)\cdot Sex+0{,}119\cdot M+0{,}121\cdot S_{b+h+f}\cdot H$	90,3	96,8	93,6
2	$6{,}823+(-2{,}117)\cdot Sex+0{,}127\cdot M+0{,}162\cdot S_{b+f}\cdot H$	87,0	96,8	92,0

ИМТ как критерий ожирения ни в коей мере не отражает факт наличия или отсутствия саркопении.

По результатам оригинальной методики оценки аппендикулярной мышечной массы ультразвуковым методом были сделаны расчеты для каждого пациента по двум альтернативным регрессионным моделям (*табл. 2*). Обе модели включали такие показатели, как пол, масса тела, рост и площадь мышц, но первая модель учитывала площадь мышц предплечья, плеча и бедра, а вторая — только плеча и бедра.

Оказалось, что обе модели обладали весьма высокой прогностической мощностью (скорректированный R^2=0,92) и незначительной погрешностью (стандартная ошибка — 1,20 и 1,24 кг), высокой чувствительностью и специфичностью, позволяющей достичь диагностической точности, достигающей в первой модели почти 94 %, а во второй — 92 % (см. табл. 2, *табл. 3*).

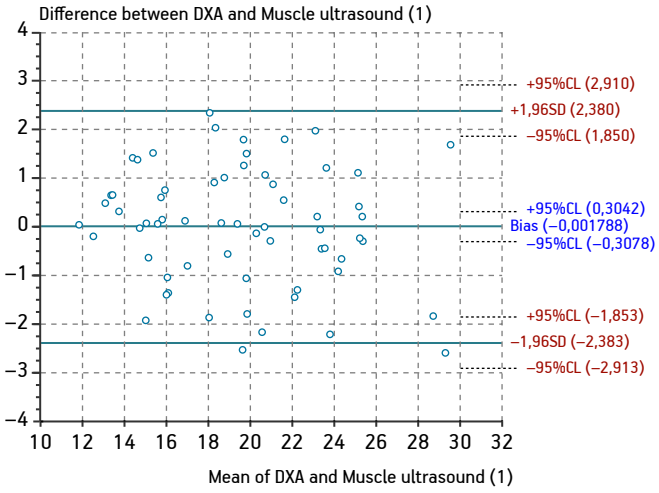


Рис. 4. График Блэнда—Альтмана, демонстрирующий отсутствие систематической ошибки между эталонным методом (DXA) и моделью (1) [Muscle ultrasound (1)] оценки аппендикулярной тощей массы

При множественном линейном регрессионном анализе за результирующий признак была принята АТМ (кг). Примечательно, что обе модели были лишены систематических ошибок (CC приближается к 0), что наглядно подтверждается на графиках Блэнда—Альтмана для формул 1 и 2 (*рис. 4, 5*). Проведенная кросс-валидация в виде сравнения исходного и скорректированного коэффициента детерминации не показала существенной разницы.

Получены две модели, позволяющие с высокой точностью предсказать АТМ у лиц пожилого и старческого возраста с ХСН. При исследовании чувствительности и специфичности выявлено некоторое преимущество первой модели, однако вторая модель требует меньше времени для сбора данных, что упрощает исследование и делает его более привлекательным для практического применения.

Анализ зарубежных работ, посвященных разработке методов ультразвуковой диагностики саркопении, показывает, что наши данные во многом близки методам оценки АТМ у лиц без саркопении. Так, M. Paris и соавт. [13] рассчитывали АТМ у здоровых лиц 24–72 лет (96 человек, средний возраст 36,5 года), измеряя толщину мышц на девяти участках тела (два — на плече, один — на предплечье, два —

на бедре, один — в подлопаточной области, два — на голени и один — на животе). Модель обладала хорошей прогностической способностью (R^2=0,91), но большей, чем в нашем случае, погрешностью (Std. er.±3,18 кг) и трудоемкостью. T. Abe и соавт. [5] изучали аналогичную проблему у 389 лиц 60–79 лет. Исследователями достигнута точность R^2=0,899 при исследовании толщины четырех участков тела (передние поверхности плеча, предплечья, бедра и голени). К сожалению, авторы не приводят данных о диагностической точности их методики при диагностике саркопении. Необходимо отметить, что на предварительном этапе нами проведена информативность данных толщины мышц для диагностики саркопении, однако полученные модели существенно уступали в прогностической мощности и точности регрессионным уравнениям, учитывающим площадь ультразвуковых срезов соответствующих мышц.

Заключение

Предложенный нами ультразвуковой метод оценки мышечной массы позволяет с высокой надежностью [скор. R^2 (1)=0,921 и скор. R^2 (2)=0,925] вычислить аппендикулярную тощую массу, которая представляет собой количественный показатель для определения патологического снижения мышечной массы. Обе предложенные модели для расчета аппендикулярной тощей массы имели высокую диагностическую точность (92 и 93,6 %), незначительную погрешность и отсутствие систематической ошибки определения. Для практических целей скрининга саркопении можно предложить модель (2), которая для расчета аппендикулярной тощей массы использует площадь бицепсов и прямых мышц бедра. Предложенный метод характеризуется доступностью, простотой и быстротой выполнения, что делает перспективным его широкое применение в повседневной клинической практике.

Конфликт интересов отсутствует. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования исследования.

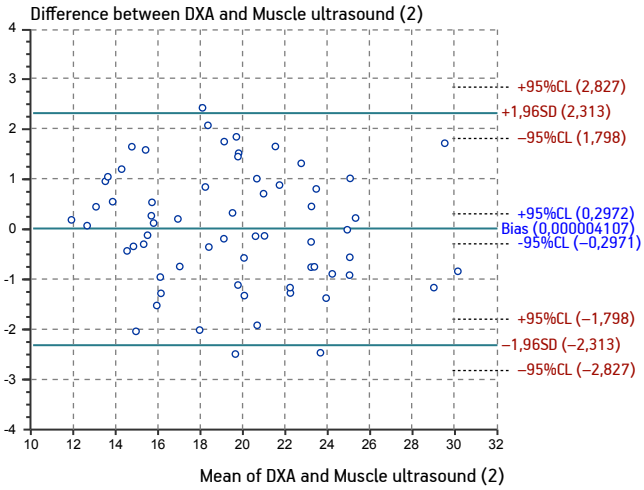


Рис. 5. График Блэнда—Альтмана, демонстрирующий отсутствие систематической ошибки между эталонным методом (DXA) и моделью (2) [Muscle ultrasound (2)] оценки аппендикулярной тощей массы

Литература

1. *Гуляев Н.И., Ахметшин И.М., Гордиенко А.В. и др.* Саркопения в клинике внутренних болезней // Воен.-мед. журн. 2018. Т. 339. №. 12. С. 24–30.
2. *Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т. и др.* Клинические рекомендации. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) // Журн. сердеч. недостаточность. 2017. Т. 18. № 1. С. 3–40.
3. *Нестеров В.С., Урванцева И.А., Воробьев А.С.* Хроническая сердечная недостаточность: современные проблемы и пути их решения // Леч. врач. 2018. № 7. С. 11–14.
4. *Фомин И.В.* Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что сегодня мы знаем и что должны делать // Рос. кардиол. журн. 2016. Т. 8. С. 7–13.
5. *Abe T., Thiebaud R.S., Loenneke J.P. et al.* DXA-rectified appendicular lean mass: development of ultrasound prediction models in older adults // J. Nutr. Hlth & aging. 2018. Vol. 22. № 9. P. 1080–1085.
6. *Cruz-Jentoft A.J., Bahat G., Bauer J. et al.* Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis // Age ageing. 2018. Vol. 48. № 1. P. 16–31.
7. *Fernandes L.C.B.C., De Oliveira I.M., Fernandes P.F.C. et al.* Impact of Heart Transplantation on the Recovery of Peripheral and Respiratory Muscle Mass and Strength in Patients With Chronic Heart Failure // Transplant. direct. 2018. Vol. 4. № 11. doi: 10.1097/TXD.0000000000000837
8. *Forman D.E., Santanasto A.J., Boudreau R. et al.* Impact of incident heart failure on body composition over time in the health, aging, and body composition study population // Circulation: Heart Failure. 2017. Vol. 10. № 9. P. e003915. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.003915
9. *Fülster S., Tacke M., Sandek A. et al.* Muscle wasting in patients with chronic heart failure: results from the studies investigating co-morbidities aggravating heart failure (SICA-HF) // Europ. Heart J. 2012. Vol. 34. № 7. P. 512–519.
10. *Hu G.F., Tian J.H., Yang J. et al.* Sarcopenia and long-term prognosis of patients with chronic heart failure in patients aged 70 years and over // Zhonghua nei ke za zhi. 2018. Vol. 57. № 3 P. 212–215.
11. *McLean R.R., Kiel D.P.* Developing consensus criteria for sarcopenia: an update // J. Bone Mineral Res. 2015. Vol. 30. № 4 P. 588–592.
12. *Nijholt W., Scafoglieri A., Jager-Wittenaar H. et al.* The reliability and validity of ultrasound to quantify muscles in older adults: a systematic review // J. Cachex. Sarcopenia Muscle. 2017. Vol. 8. № 5. P. 702–712.
13. *Paris M.T., Lafleur B., Dubin J.A., Mourtzakis M.* Development of a bedside viable ultrasound protocol to quantify appendicular lean tissue mass // J. Cachex. Sarcopenia Muscle. 2017. Vol. 8. № 5. P. 713–726.
14. *Studenski S.A., Peters K.W., Alley D.E. et al.* The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates // J. Gerontol. Ser. A: Biomed. Sci. Med. Sci. 2014. Vol. 69. № 5. P. 547–558.

Поступила в редакцию 02.10.2019
После доработки 04.10.2019
Принята к публикации 08.10.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1039–1044

N. I. Gulyaev, I. M. Akhmetshin, A. V. Gordienco, A. N. Kulikov

THE POSSIBILITIES OF ULTRASOUND TESTING IN DIAGNOSTICS OF SARCOPENIA IN OLDER PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

S. M. Kirov Military Medical Academy, 6 Akad. Lebedev str., St. Petersburg 194044, e-mail: nig27@mail.ru

The article presents the results of a study of the possibility of ultrasound testing of sarcopenia in older people suffering from chronic heart failure. All patients (63 persons, mean age 77,2±7,7 years) underwent dual-energy *X*-ray absorptiometry. Sarcopenia was diagnosed in 31 patients (FNIH sarcopenia project, 2014). The area of the shoulder muscles (m. Biceps brachii), thigh (m. Rectus femoris) and 3 muscles of the forearm (m. brachioradialis, m. extensor carpi radialis longus, m. extensor carpi radialis brevis) was estimated. By performing multiple linear regression analysis, 2 ultrasound models of sarcopenia diagnosis with diagnostic accuracy of 92% and 93,6% are proposed. Models are based on the sum of limb muscle areas adjusted for gender, height and body weight.

Key words: *dual-energy X-ray absorptiometry, muscle ultrasound, muscle mass, sarcopenia, chronic heart failure*

© В. С. Мякотных, Т. А. Боровкова, А. П. Сиденкова, 2019
Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1045–1051
УДК 613.98:37.018.4:004

В. С. Мякотных, Т. А. Боровкова, А. П. Сиденкова

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДИСТАНЦИОННЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В СИСТЕМЕ ПОДГОТОВКИ ВРАЧЕЙ ПО ВОПРОСАМ ГЕРОНТОЛОГИИ И ГЕРИАТРИИ

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

В статье поднята очень важная проблема, посвященная возможности использования дистанционных образовательных технологий в системе последипломной подготовки врачей по вопросам геронтологии и гериатрии. В сравнительном аспекте приведены достоинства и недостатки дистанционного образования, оценены возможности их применения при вариантах подготовки врача-гериатра с разной продолжительностью циклов обучения. Проблема рассмотрена с точки зрения самого врача, его работодателя, представителей образовательной организации с учетом имеющихся нормативных, законодательных актов. Приведены результаты собственных исследований, проведенных на базе медицинского университета. Представлены рекомендации, направленные на совершенствование программ последипломного обучения врачей-гериатров и других специалистов, решающих медицинские и медико-социальные проблемы представителей пожилого и старческого возраста, с применением дистанционных технологий.

***Ключевые слова:** геронтология и гериатрия, врач-гериатр, дистанционное, последипломное образование*

В последние годы в системе последипломного медицинского образования нашей страны происходит ряд изменений, напрямую касающихся подготовки врачей по вопросам гериатрии. С одной стороны, после выхода в свет известных приказов МЗ РФ [6–8] активизировалась подготовка врачей-гериатров и специалистов первичного звена по вопросам геронтологии и гериатрии. С другой стороны, в последипломное медицинское образование продолжают активно внедряться дистанционные технологии обучения [9, 12]. Данная ситуация обострилась до состояния критической после того, как на российский рынок вышли некие образовательные организации, предлагающие свои услуги исключительно дистанционного последипломного медицинского образования, в том числе первичной переподготовки по ряду врачебных специальностей, в том числе гериатрии, за символические цены. Живой пример этому — Международная академия экспертизы и оценки (МАЭО) Министерства образования Саратовской области РФ, предлагающая дистанционную первичную переподготовку по гериатрии (520 ч) за 15 тыс. руб. [4]. На деле при этом «обучающийся» врач получает диплом специалиста, не проходя соответствующую медицинскую практику ни в стационаре, ни в поликлинике, а дистанционные интерактивные коммуникационные технологии представляются авторами подобного рода учебных программ единственно возможными, необходимыми и продвинутыми.

Вопрос постоянно поднимается и обсуждается на заседаниях ученых советов медицинского вуза, делаются соответствующие выводы по поводу указанных дистанционных технологий, в своей основе негативные, но на деле ничего не меняется. Рынок дистанционных образовательных услуг продолжает развиваться, цены на указанные услуги искусственно занижаются, создавая демпинговую ситуацию. Создавшееся положение вещей заставило нас задуматься и на основе имеющихся литературных данных и собственного многолетнего опыта провести анализ действительных возможностей дистанционных обучающих технологий в системе последипломного медицинского образования по программам гериатрии и представить рекомендации по дальнейшему их внедрению и использованию.

К исследованию были привлечены некоторые кафедры Уральского медицинского университета, принимающие участие в подготовке врачей по вопросам геронтологии и гериатрии. Рассматривали проблемы разработки и практического использования программ дистанционного образования по различным разделам специальности. Обсуждали возможности использования смешанных очно-

заочных технологий преподавания геронтологии и гериатрии. Проводили опросы и анкетирования как самих врачей, обучающихся на курсах повышения квалификации и профессиональной переподготовки, так и их работодателей — главных врачей лечебно-профилактических учреждений. При этом сравнивали результативность обучения на очной, очно-заочной и полностью дистанционной основе. Полученные показатели вносили в специально созданную базу данных и обрабатывали с помощью методов вариационной статистики с использованием стандартных компьютерных программ Biostatistica и MS Excel. Результаты многочисленных обсуждений и исследований, представленные ниже, легли в основу выработанных нами представлений о возможности использования дистанционных образовательных технологий в системе подготовки врачей, работающих с пациентами пожилого и старческого возраста и/или категориями ускоренно, преждевременно стареющих лиц.

С нашей точки зрения, сами по себе интерактивные технологии, в том числе дистанционные, являются позитивными и соответствующими настоящему времени с его очень активными, многоплановыми, постоянно меняющимися подходами к обучению специалистов разного профиля. Мы полностью согласны с тем, что при их использовании обучение становится индивидуальным, учитывающим особенности личности, интересы и потребности каждого обучаемого. Появляется возможность ёмко и сжато представить любой объем информации, улучшается визуальное восприятие, значительно упрощается процесс усвоения учебного материала, активизируется познавательная деятельность [2, 3, 11, 13]. Но первый вопрос заключается в том, может ли использование исключительно дистанционных интерактивных технологий, даже самых современных и продвинутых, заменить полноценное последипломное очное образование врачей, в частности врачей-гериатров? Второй вопрос — возможно ли при проведении одного образовательного цикла использовать обе формы обучения (очную и дистанционную), совмещая и подразделяя их в зависимости от конкретной тематики, профессиональной компетенции врача в том или ином рассматриваемом вопросе, приверженности самого врача и его работодателя к той или иной форме обучения?

Как известно, современная геронтология и гериатрия включает самые разные общебиологические, медицинские, социальные и психологические направления. И полноценная подготовка врача-специалиста в области гериатрии представляется невозможной без знания как фундаментальных, общетеоретических аспектов геронтологии, так и овладения практическими навыками в сфере многих врачебных специальностей — терапии, неврологии, психиатрии, хирургии, урологии, гинекологии и целого ряда других. Эта схема обучения представляется совершенно очевидной исходя из основного заявленного принципа практической деятельности врача-гериатра в качестве высокообразованного специалиста-консультанта [10]. Данный специалист должен обладать соответствующими знаниями и практическими навыками интегративного лечебно-диагностического подхода к пациенту пожилого и старческого возраста, который страдает одновременно целым рядом заболеваний, в своей основе возраст-ассоциированных. И только широкие познания в самых разных разделах медико-социальной, медико-психологической науки могут помочь врачу-гериатру правильно сориентироваться в комплексной хронической патологии, выбрать её компоненты, требующие на данный период времени основного внимания, и назначить лечение, исключающее побочное действие полипрагмазии.

Таким образом, процесс подготовки врача-гериатра представляется весьма сложным, направленным на получение знаний и умений очень широкого диапазона. И здесь очень важным является, на наш взгляд, не только уровень профессиональной медицинской образованности и опыт работы с пожилыми лицами, но и уровень общей культуры такого специалиста, его коммуникабельность, умение вести диалог с представителями любого социального слоя, иметь широчайший словарный запас и накопленный опыт общения в разных сферах человеческой деятельности. Конечно же, всё это нарабатывается годами и отнюдь не с помощью исключительно дистанционных технологий, даже самых современных, интерактивного уровня. Поэтому основным побуждающим моментом выбора вида обучения — очного или заочного, дистанционного — должны быть не желание работодателя обучаемого врача или же стремление преподавателя или учреждения, осуществляющего профессиональную переподготовку и усовершенствование, а обозначенные характеристики будущего специалиста-гериатра. И если для очного обучения процедура вводного, первичного контроля знаний врача-курсанта является своего рода «лакмусовой бумажкой» для решения вопро-

са о дальнейшей интенсивности профессиональной подготовки и индивидуализации её содержательной части, то для дистанционного обучения ограниченный уровень знаний может и должен стать поводом для отказа в дистанционном обучении. Такому специалисту нужно рекомендовать исключительно очную форму обучения. Из этого следует вывод о том, что одного желания врача и/или его работодателя совершенно недостаточно для выбора системы подготовки гериатра — очной или же заочной, то есть дистанционной.

В отношении таких многополярных дисциплин, как гериатрия, возможно предлагать дистанционные циклы обучения врачам, имеющим традиционную добротную первичную специализацию по ряду медицинских специальностей, которая включает формирование особого мировоззрения в отношении проблем позднего возраста, специфических теоретических и практических подходов к пациентам гериатрического профиля. Тем не менее, к большому сожалению, на сегодняшний день основной отправной точкой выбора варианта последипломного образования остается субъективное мнение врача и/или его работодателя, основанное на принципе удобства или же, наоборот, неудобства получения необходимых знаний и навыков в том или ином варианте.

Тем не менее, процесс дистанционного образования имеет свои положительные и отрицательные стороны. Позитивные моменты, по нашему мнению, видятся в следующем. Теоретическую, фундаментальную составляющую современной геронтологии вполне можно изучать дистанционно, опираясь на те рекомендации, которые даются преподавателями в вводной части дистанционного учебного цикла. При этом обучаемый врач не прекращает своей профессиональной деятельности по основному месту работы, не теряет зарплаты, не имеет юридических неприятностей от работодателя при непосещении занятий, может обучаться находясь на больничном листе, в декретном отпуске и так далее, не отрываясь на длительное время от дома и семьи. Не возникает проблемы «потери постоянного клиента» при длительном отсутствии на рабочем месте врача, оказывающего платные медицинские услуги. Не теряются месяцы специального стажа, которые в некоторых медицинских учреждениях вычитают из периода учебы. Имеет значение и большой ассортимент тематики образовательных циклов, предлагаемых при дистанционном варианте образования по сравнению с очным вариантом. Отсутствуют командировочные расходы и проблема расселения курсантов при сокращении мест для врачей в общежитиях и увеличении этих мест для студентов вуза. Нет необходимости искать возможность соблюдения диеты при целом ряде хронических заболеваний, которыми могут страдать обучаемые. Стоимость дистанционного цикла обучения часто ниже, чем очного. В процессе получения дистанционного образования врачу оказывается проще и быстрее взаимодействовать с образовательным учреждением при оформлении необходимой документации. При хорошем владении персональным компьютером имеется возможность немедленно получать ссылки на недостаточный материал, расширив свои знания непосредственно в момент слушания лекции, или же, например, получать ответы на задаваемые вопросы непосредственно в процессе проводимого дистанционно учебного семинара. Дистанционные образовательные циклы в определенной степени удобны и для преподавателей, они более экономны по затратам времени и усилий, и при этом выполняется контактная нагрузка, так как дистанционные часы включаются в неё.

Негативные составляющие дистанционного медицинского образования, в частности последипломной подготовки врачей-гериатров, также достаточно заметны. Нам представляется, что дистанционная форма обучения несколько обесценивает процесс медицинского образования. Обучаемый врач оказывается перед ежедневным выбором: что предпочесть вечером после работы — лекцию слушать, или есть дела, более актуальные на данный момент, да и устал уже... Как показывает практика, многие врачи, особенно женщины предпенсионного и пенсионного возраста, плохо владеют персональным компьютером. Нередко возникает невозможность или же ненужность приобретения своего компьютера для дома, в таком случае либо увеличивается продолжительность рабочего дня при пользовании рабочим компьютером учреждения, либо врача просто отстраняют от работы с персональным компьютером, числящимся за медицинским учреждением. Невозможно исключить также банальную лень при отсутствии постоянного контроля и/или мотивации к учебе. Компьютерное тестирование при отсутствии живой экзаменационной беседы также себя изжило, несмотря на кажущееся удобство, и подходит только для самоконтроля усвоенного учебного материала.

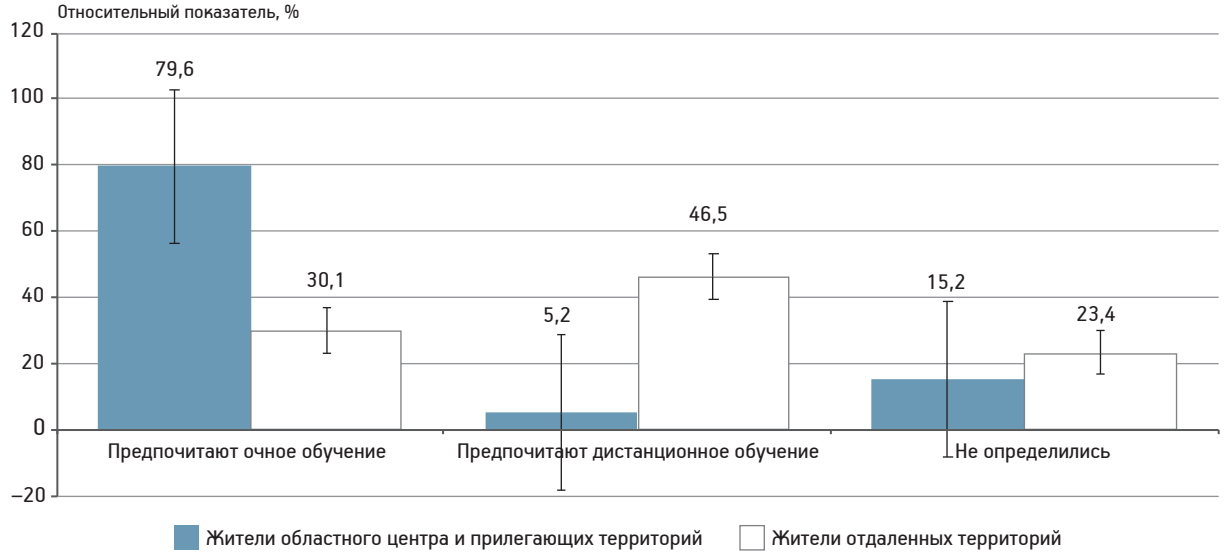
Для работы врача-гериатра основное значение имеет возможность непосредственного, тес-

ного общения с пациентом, и это прекрасно иллюстрируется знаменитым высказыванием Матвея Яковлевича Мудрова: «Врачу надо хотя бы бегло осмотреть все части тела больного, начиная с головы до ног, исследовать состояние ума, вглядеться в лицо его, глаза, проверить язык — „вывеску желудка", спросить о позыве к еде и питью, вслушаться в звук голоса, слышать дыхание груди его, уметь почувствовать на ощупь живот, видеть и исследовать экскременты, кровь, мокроту, желчь и др.». И эту мысль можно продолжить не менее знаменитым высказыванием Владимира Михайловича Бехтерева: «Если после разговора с врачом больному не становится легче, то это не врач» [1]. Особенно это важно для пожилых пациентов с часто встречающимися психиатрическими проблемами, которые сопровождаются нарушениями памяти, интеллекта, эмоциональной сферы. И здесь представляется исключительно важным именно вербальное общение, изучить тонкости которого и овладеть ими можно только при непосредственном участии преподавателя и пациента, но никак не в дистанционной форме. Да и весьма конкретные особенности физикального исследования пациента пожилого и старческого возраста просто невозможно столь же правдиво и детально показать на экране, как это проводится в присутствии опытного специалиста и под его непосредственным руководством в кабинете поликлиники или у постели больного. Поэтому практическая часть обучения, а она составляет большинство учебных часов, не должна и не может быть дистанционной. Наконец, при дистанционном обучении, даже при использовании интерактивных технологий, вебинаров и так далее, отсутствует эмоциональная и в некотором роде «артистическая» составляющая, и это особенно касается преподавателей с высокой степенью харизматичности, популярности, чем, по существу, должен обладать почти каждый педагог высшей школы. Это можно сравнить со спектаклем, транслируемым по телевидению, по отношению к спектаклю, просмотренному в зрительном зале театра. Разница колоссальная! Кто-то из актеров срывает шквал аплодисментов, а кого-то освистывают, но как это сделать дистанционно? Исходя из такого сравнения, дистанционное образование можно иногда рассматривать в качестве удобной «палочки—выручалочки» для неумелых, неопытных, непопулярных, испытывающих страх перед большой аудиторией преподавателей. Но таковых в принципе быть не должно.

В течение ряда лет мы проводили анкетирование врачей-курсантов, проходящих циклы тематического усовершенствования продолжительностью 144 ч (1 мес) по вопросам геронтологии и гериатрии. В проводившихся опросах для выяснения отношения к дистанционной форме образования приняли участие 728 врачей. Однозначно позитивное отношение к дистанционному обучению высказали 156 (21,4 %) врачей, негативное — 438 (60,2 %), не смогли определиться — 134 (18,4 %). При распределении врачей по месту их проживания, его территориальной отдаленности от места прохождения цикла усовершенствования, полученные результаты анкетирования кардинально менялись: жители Екатеринбурга и городов-спутников, расположенных в радиусе до 40 км от областного центра (n=442), в большинстве своем (n=352; 79,6 %) высказались за обучение, проводимое в очной форме. Жители более отдаленных территорий (n=286), в том числе других административных регионов РФ, значительно чаще (p<0,05) предпочитали дистанционную форму образования (n=133; 46,5 %), обозначая её определенные преимущества и не умаляя недостатков. Представленный график (*рисунок*) дает наглядное представление о полученных результатах анкетирования.

В качестве примера хотелось бы привести высказывание женщины — врача высшей квалификационной категории, кандидата медицинских наук, продолжающего научную карьеру, преподавателя медицинского вуза, матери двоих детей, проживающей в Сургуте (Тюменская обл.) и имеющей общий врачебный стаж свыше 15 лет: «По поводу дистанционного обучения в целом — я только „за". Без отрыва от работы, дома и семьи. Курс полноценный: шикарные лекции, презентации, все сопровождалось аудиоинформацией. Без усвоения материала невозможно сдать текущий контроль и перейти на следующий уровень. Но!!! Я прекрасно понимала, что вся информация в основном находится на представляемых слайдах, их можно сфотографировать, и именно на основании материала этих слайдов я успешно сдавала зачет. Минусы — мало практики и живого общения. Хотя, по большому счету, кто хочет получить информацию, получит ее как на основе очного, так и заочного обучения».

Приведенный пример, на наш взгляд, прекрасно иллюстрирует рассматриваемую нами ситуацию, сложившуюся вокруг дистанционной формы профессиональной переподготовки врачей при



Предпочтение вариантов форм последипломного обучения представителями разных территорий

«классической» продолжительности циклов обучения — 144 ч. У обучаемого врача нет никаких претензий к лекционной части образовательного курса, но есть проблемы с сугубо практическими составляющими. При этом совершенно обоснованно обращается внимание на такой момент, как желание врача учиться и получать необходимые знания. Вероятно, нельзя упускать и тот фактор, что в приведенном примере перед нами предстала опытный специалист, кандидат медицинских наук, врач и преподаватель, работающий над докторской диссертацией. Далеко не все обучаемые врачи обладают таким «набором» качеств, и это тоже нужно учитывать при выборе формы обучения.

Несколько иная ситуация складывается при решении вопросов непрерывного медицинского образования с проведением учебных циклов по геронтологии и гериатрии продолжительностью 18–36 ч. Здесь практически 100 % врачей высказываются в пользу дистанционной формы подготовки, которая избавляет от излишней рутины и затратам времени по оформлению необходимой документации, не приводит к значительным трудностям при использовании компьютерных технологий и закономерной усталости, вызванной необходимостью длительного и порой весьма скучного общения с персональным компьютером. С другой стороны, в процессе дистанционно проводимого короткого учебного цикла оказывается невозможным обучение ряду приемов оказания экстренной, неотложной помощи пожилому человеку. Такое обучение является обязательным и всегда требует не только и не столько показа необходимых приемов, сколько практического их усвоения на уровне автоматизма. А это, в свою очередь, требует тренировки в присутствии преподавателя при непосредственном контакте с ним.

Совершенно особые условия, в отличие от повышения квалификации, предъявляет первичная подготовка по гериатрии, проводимая либо по программам обучения длительностью 500–576 ч (4 мес), либо на основе прохождения клинической ординатуры. Дистанционная форма обучения в подобных случаях юридически вообще не предусмотрена, и такого рода предложения, часто представляемые в интернете, являются с этой точки зрения нарушениями существующей системы первичной подготовки врачей. Тем не менее, на наш взгляд, некоторые вопросы профессиональной переподготовки все же можно рекомендовать к дистанционной форме обучения. Это касается, например, теоретических вопросов геронтологии, не требующих получения и тренировки практических навыков. У нас есть практический опыт использования такого рода технологий, и они во всех случаях дают позитивные результаты. В течение последнего года нами была внедрена система написания и защиты дипломных работ при текущем дистанционно проводимом консультировании обучаемого врача. Это учит работе с литературой, умению грамотно выражать в письменном виде свои мысли, суждения, готовить презентацию и приносит удовлетворение автору от проделанной работы и полученных в процессе её выполнения новых знаний.

Вполне очевидно поэтому, что вопросы дистанционного образования должны касаться не только повышения квалификации, в том числе в процессе непрерывного медицинского образования, но и пер-

вичной переподготовки по гериатрии. Особенно актуально это в тех случаях, когда обучаемый вопросам геронтологии и гериатрии врач-терапевт может иметь достаточный объем клинической практики в своем лечебно-профилактическом учреждении, которое инициировало переподготовку врача для получения второй врачебной специальности гериатра. В подобных случаях при первичной переподготовке юридически врач не имеет права на дистанционную часть образовательного процесса, весь процесс обучения должен быть очным. Но, вместе с тем, далеко не всегда практическая часть обучения в качестве врача-стажера гериатрической клиники дает возможность приобрести необходимые навыки по целому ряду составляющих гериатрии, например неврологии, офтальмологии, урологии, гинекологии и др. Возможно поэтому некоторую часть практической составляющей подготовки врача-гериатра можно было бы перенести в то многопрофильное, нередко клиническое лечебно-профилактическое учреждение, по заявке которого и проводится профессиональная переподготовка. Но это — при условии сохранения проводимых очных собеседований, зачетов, решения ситуационных задач и иных вариантов контроля. Нами предпринимались попытки внедрения такой модели обучения, обозначенной в качестве очно-заочной методики, и они показали достаточно высокую эффективность в процессе первичной переподготовки врачей, имеющих большой опыт работы с пациентами пожилого и старческого возраста. Конечно, в значительной степени успешность такого обучения зависит от тесного и целенаправленного взаимодействия образовательных и лечебно-профилактических учреждений.

Так же как и в процессе повышения квалификации, теоретическую часть и тренирующее врача компьютерное тестирование, проводимые по программам первичной переподготовки, можно оставить в дистанционной части образовательной программы. Но в последующем необходимы итоговые экзамены или зачеты, которые следует принимать уже в процессе очного, устного собеседования, а не заменять это простым тестированием, как это нередко практикуется сейчас. Необходимо также предусмотреть возможность варьирования продолжительности обучения в его очной и дистанционной составляющих. Данная продолжительность может зависеть от конкретной ситуации, связанной с уровнем общей подготовки врача, его практическим опытом, компетенциями.

Совершенно отдельно стоит вопрос о подготовке врача-гериатра в клинической ординатуре. Здесь мы, к сожалению, сталкиваемся не столько с возможностью использования дистанционных технологий в рамках данной подготовки, сколько с нежеланием самих врачей и их работодателей проходить обучение в ординатуре по гериатрии и оплачивать этот вид обучения. Как уже указывалось нами ранее [5], за прошедшие почти 25 лет существования курса, а затем кафедры гериатрии Уральского государственного медицинского университета ни один врач не подал заявку для поступления в клиническую ординатуру по гериатрии, несмотря на предоставление до пяти мест ежегодно. Объясняется это, на наш взгляд, двумя основными причинами — сохраняющимся непониманием необходимости данной врачебной специальности и высокой стоимостью обучения, которая в общей сложности составляет порядка 350 тыс. руб. При этом закончивший ординатуру по гериатрии врач лишен возможности работать по иной, нежели гериатр, специальности, в качестве терапевта например. Это создает большие неудобства для администрации лечебно-профилактических учреждений в плане маневра врачебных кадров, особенно на фоне их дефицита. В данной ситуации значительно более удобной оказывается подготовка врачей в ординатуре по терапии с дальнейшей первичной переподготовкой по гериатрии. Это сохраняет возможность работы такого врача как в качестве гериатра, так и терапевта, что удобно и для него самого, и для его работодателя. Тем не менее, при условии дальнейшего развития гериатрии и гериатрического образования в нашей стране вполне возможным, по нашему мнению, окажется использование дистанционных технологий с участием ведущих специалистов — как отечественных, так и зарубежных — в процессе подготовки врачей-гериатров через клиническую ординатуру. Это может быть чтение лекций, проведение семинаров, консультаций сложных пациентов с использованием современных телемедицинских технологий. Такой опыт уже есть, и его использование при обучении в клинической ординатуре принесет только пользу.

Таким образом, дистанционное последипломное образование должно занять и уже уверенно занимает определенную нишу в процессе подготовки врача-гериатра и специалистов иного профиля, решающих медицинские и медико-социальные проблемы представителей пожилого и старческого возраста, а также ускоренным образом, прежде-

временно стареющих лиц. Безусловно, у дистанционного образования формируется свой потребитель в системе последипломной подготовки. Но при этом вопрос выбора формы обучения нельзя решать по принципу «либо очная, либо дистанционная». Во-первых, необходимо в пределах одного цикла обучения уметь использовать дистанционные технологии в качестве необходимого дополнения к базовой очной учёбе. Во-вторых, право выбора формы обучения должно быть не только у врача и его работодателя, но и у образовательной организации при соответствующей предварительной оценке профессиональной подготовки врача и содержания планируемого цикла обучения. В-третьих, возможность использования дистанционных технологий должна быть ориентирована в основном на короткие, продолжительностью до 36 ч, циклы обучения по программам непрерывного медицинского образования, в частности при изучении некоторых вопросов, не требующих формирования новых и высоко технологичных практических навыков. Только при выполнении названных условий профессиональная подготовка по вопросам геронтологии и гериатрии будет высокоэффективной и не окажется сведенной к уровню банальной продажи диплома или свидетельства об образовании.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Гавриков В.А., Гавриков Н.А.* Мудрое слово о здоровье и долголетии: изречения, афоризмы, пословицы, поговорки. Краснодар, 1984.
2. *Лабуз Л.С., Мазаева Л.Н.* Информационные технологии в высшем профессиональном образовании: проблемы и перспективы // Науч.-метод. электрон. журн. «Концепт». 2016. Т. 37. С. 90–95. Режим доступа: http://e-koncept.ru/2016/56791.htm
3. *Марчук Н.Ю.* Психолого-педагогические особенности дистанционного обучения // Педагогическое образование в России. 2013. № 4. С. 78–85.
4. *Международная* академия экспертизы и оценки (МАЭО) Министерства образования РФ (г. Саратов). Лицензия Министерства образования Саратовской области № 1420 от 21 апреля 2014 г. Режим доступа: https://xn--80axh3d.xn--p1ai/kursi/meditsina/
5. *Мякотных В.С.* О состоянии и перспективах геронтологии и гериатрии в регионах России (на примере Свердловской области) // Успехи геронтол. 2018. Т. 31. № 6. С. 825–832.
6. *Приказ* Министерства здравоохранения Российской Федерации от 22 января 2014 г. № 36н «Об утверждении примерных дополнительных профессиональных программ медицинского образования по специальности “Гериатрия”».
7. *Приказ* Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 января 2016 г. № 38н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “Гериатрия”».
8. *Приказ* Министерства здравоохранения Российской Федерации от 8 октября 2015 г. № 707н «Об утверждении квалификационных требований к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием по направлению подготовки “Здравоохранение и медицинские науки”. Специальность “Гериатрия”».
9. *Приказ* Министерства образования и науки РФ от 9 января 2014 г. № 2 «Об утверждении Порядка применения организациями, осуществляющими образовательную деятельность, электронного обучения, дистанционных образовательных технологий при реализации образовательных программ».
10. *Приказ* Министерства труда и социальной защиты РФ от 17 июня 2019 г. № 413н «Об утверждении профессионального стандарта “Врач-гериатр”».
11. *Сарафанов А.В., Суковатый А.Г., Суковатая И.Е. и др.* Интерактивные технологии в дистанционном обучении [электрон. ресурс]: Электрон. учеб.-метод. пособие. Красноярск: ИПЦ КГТУ, 2006. Режим доступа: http://window.edu.ru/catalog/pdf2txt/924/60924/30719
12. *Федеральный закон* от 29 декабря 2012 г. № 273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации», ст. 16. «Реализация образовательных программ с применением электронного обучения и дистанционных образовательных технологий».
13. *Bonk C.J., Lee M., Thomas H., Reynolds T.H.* A Special Passage Through Asia E-Learning // Int. J. E-learning. 2009. Vol. 8. № 4. P. 439–445.

Поступила в редакцию 12.08.2019
После доработки 12.08.2019
Принята к публикации 29.08.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1045–1051

V. S. Myakotnykh, T. A. Borovkova, A. P. Sidenkova

POSSIBILITIES OF APPLICATION OF REMOTE EDUCATIONAL TECHNOLOGIES IN THE TRAINING OF DOCTORS ON GERONTOLOGY AND GERIATRICS

Ural State Medical University, 3 Repin str., Yekaterinburg 620028, e-mail: vmaykotnykh@yandex.ru

The article raises a very important problem devoted to the possibility of using distance learning technologies in the system of postgraduate training of doctors in gerontology and geriatrics. In the comparative aspect, the advantages and disadvantages of distance education are given, the possibilities of their application in different variants of training a geriatrician doctor with different duration of training cycles are evaluated. The problem is considered from the point of view of the doctor, his employer, representatives of the educational organization taking into account the existing normative, legislative acts. The results of the studies performed at the medical University. Recommendations aimed at improving the programs of postgraduate training of geriatric doctors and other specialists solving medical and medical social problems of the elderly and senile age with the use of remote technologies are presented.

Key words: *gerontology and geriatrics, doctor-geriatric, distance, postgraduate education*

© Е. А. Вершинина, Г. Л. Сафарова, 2019
УДК 51-76

Успехи геронтол. 2019. Т. 32. № 6. С. 1052–1062

Е. А. Вершинина [1], *Г. Л. Сафарова* [2]

О ПРИМЕНЕНИИ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ СТАТИСТИКИ В КЛИНИЧЕСКИХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

[1] Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6, e-mail: ver_elen@mail.ru;
[2] Институт проблем региональной экономики РАН, 190013 Санкт-Петербург, Серпуховская ул. 38, e-mail: gaia-s@mail.ru

В работе рассмотрен ряд вопросов, в том числе концептуальных, связанных с особенностями принятия статистических решений, выбора критериев и расчета характеристик, позволяющих усилить доказательную базу выводов, полученных при анализе данных методами математической статистики. Статья имеет целью не изложить сами методы математической статистики, а проанализировать условия и необходимость применения наиболее распространенных критериев. В частности, обсуждаются вопросы о величине показателя статистической значимости наблюдаемых эффектов и размере выборки для получения значимого эффекта, рассмотрены эффект множественных сравнений, применение байесовского подхода и др.

Ключевые слова: анализ данных, статистическая значимость, уровень значимости (значение p), статистические решения, статистический критерий

> В каждом знании столько истины, сколько в нем математики.
>
> *И. Кант*

> Чтобы тебя хорошо понимали, приходится быть не совсем точным, а чтобы быть абсолютно точным, приходится быть непонятным.
>
> *Бертран Рассел*

Проблемы выбора статистических критериев и адекватности общепринятых пороговых численных значений для исключения «недостоверных» результатов являются предметом активного обсуждения в мировой биомедицинской литературе. Поводом для написания данной статьи послужила дискуссия, связанная с работой Н. Н. Хромова-Борисова [10], в которой содержались критические замечания по поводу принятия статистических решений о продолжительности жизни пациентов, принимающих пептиды, по сравнению с теми, кто не принимал их, в работах В. Х. Хавинсона и соавт. [5, 7, 12, 16]. Этой дискуссии посвящен специальный выпуск Вестника Геронтологического общества РАН [2]. В настоящей работе, помимо обсуждения положений, выдвигаемых Н. Н. Хромовым-Брисовым, рассматриваются и более общие методические проблемы, касающиеся применения методов математической статистики в науках о живом.

Не вызывает сомнений, что получение значимых результатов в современных клинических и экспериментальных исследованиях невозможно без применения продвинутых математических методов. При этом ни для кого не секрет, что теория вероятностей и математическая статистика представляют собой наиболее трудно воспринимаемые дисциплины. Специалистов в области математической статистики, работающих с реальным материалом, очень мало, а медики и биологи далеко не всегда в должной мере владеют математическим аппаратом.

В настоящей работе затронут ряд вопросов, в том числе концептуальных, касающихся неоднозначности применения тех или иных методов математической статистики. Так, в частности, обсуждаются вопросы о величине показателя статистической значимости наблюдаемых эффектов и размере выборки для получения значимого эффекта, рассмотрены эффект множественных сравнений, применение байесовского подхода и др.

Статья не имеет целью изложить сами методы математической статистики, основная задача — проанализировать условия и необходимость применения наиболее распространенных критериев.

У сторонников применения методов математической статистики в науках о живом нередко встречаются «рецептурные» указания, относящиеся к назначению разного рода параметров и методов для анализа экспериментальных и клинических данных. Однако подобный односторонний подход, например к выбору уровня значимости при принятии статистических решений, может привести либо к неверному решению, либо к потере важных результатов, то есть к «выплескиванию с водой ребенка». В статье на примере реальных сравнительных данных, полученных в результате многолетних наблюдений над продолжительностью жизни лю-

дей старшего возраста, принимающих и не принимающих препараты, содержащие пептиды [5, 7, 12, 16], рассматриваются основные тезисы «рецептурного» характера о выборе методов анализа подобных результатов и даются комментарии к этим тезисам.

Пример на основе данных из работ [5, 7, 12, 16]

Сколь бы сложной ни казалась проблема на первый взгляд, она, если правильно к ней подойти, окажется еще более сложной.

Пол Андерсон (писатель-фантаст)

В *табл. 1, 2* представлены статистические характеристики, традиционные результаты сравнения критерием χ^2 частот смертности в группах пациентов, принимавших препараты, и в контрольных группах при разных условиях (длительности применения препаратов и периода наблюдения) и коэффициенты сопряженности φ.

Из данных табл. 2 следует, что в трех случаях наблюдается значимое преобладание частоты смертности в контрольных группах над частотой смертности в экспериментальных группах на традиционно принятом уровне значимости 5 %.

Встает вопрос, достаточно ли полученной информации для надежного утверждения о том, что препараты положительно влияют на увеличение продолжительности жизни.

Таблица 1

Частота смертности при приеме препаратов при различных условиях

Группа	Параметр		Абс. частота			Относительная частота, %		
			воздействие		всего	воздействие		всего
			контроль	пептиды		контроль	пептиды	
60–69 лет (6 лет)	исход	живы	16	26	42	40,0	66,7	53,2
		умерли	24	13	37	60,0	33,3	46,8
	всего		40	39	79	100,0	100,0	100,0
60–74 года (8 лет)	исход	живы	41	42	83	85,4	91,3	88,3
		умерли	7	4	11	14,6	8,7	11,7
	всего		48	46	94	100,0	100,0	100,0
60–74 года (12 лет)	исход	живы	27	36	63	56,3	78,3	67,0
		умерли	21	10	31	43,8	21,7	33,0
	всего		48	46	94	100,0	100,0	100,0
75–89 лет (6 лет)	исход	живы	4	13	17	18,2	54,2	37,0
		умерли	18	11	29	81,8	45,8	63,0
	всего		22	24	46	100,0	100,0	100,0

Примечание. Группа 60–69 лет — продолжительность наблюдения 6 лет при использовании препарата 3 года; группа 60–74 года — продолжительность наблюдения 8 лет при использовании препарата 2 года; группа 60–74 года — продолжительность наблюдения 12 лет при использовании препарата 2 года; группа 75–89 лет — продолжительность наблюдения 6 лет (продолжительность использования препарата не указана).

Таблица 2

Значимости при сравнении частоты смертности между группой пациентов, принимающих препараты, и контрольными группами

Группа	χ^2, *df*=1		Поправка на непрерывность, *df*=1		Отношение правдоподобия, *df*=1		Точный критерий Фишера		*n*	φ	
	значение	$p^{2)*}$	значение	$p^{2)*}$	значение	$p^{2)*}$	$p^{3)*}$	$p^{4)*}$		значение	$p^{2)*}$
60–69 лет, 6 лет	5,639	$0{,}018^{1)*}$	4,619	$0{,}032^{1)*}$	5,712	$0{,}017^{1)*}$	$0{,}024^{1)*}$	$0{,}015^{1)*}$	79	–0,267	$0{,}018^{1)*}$
60–74 года, 8 лет	0,788	0,375	0,321	0,571	0,798	0,372	0,524	0,287	94	–0,092	0,375
60–74 года, 12 лет	5,149	$0{,}023^{1)*}$	4,201	$0{,}040^{1)*}$	5,237	$0{,}022^{1)*}$	$0{,}029^{1)*}$	$0{,}020^{1)*}$	94	–0,234	$0{,}023^{1)*}$
75–89 лет, 6 лет	6,379	$0{,}012^{1)*}$	4,928	$0{,}026^{1)*}$	6,636	$0{,}010^{1)*}$	$0{,}016^{1)*}$	$0{,}012^{1)*}$	46	–0,372	$0{,}012^{1)*}$

[1)*] Значимое различие; [2)*] асимптотическая значимость двусторонняя; [3)*] значимость точного критерия Фишера двусторонняя; [4)*] значимость точного критерия Фишера односторонняя; φ – коэффициент сопряженности признаков, представляющий собой меру оценки силы взаимосвязи, основанной на критерии χ^2. Расчеты проводили с использованием программного комплекса SPSS Inc. [1].

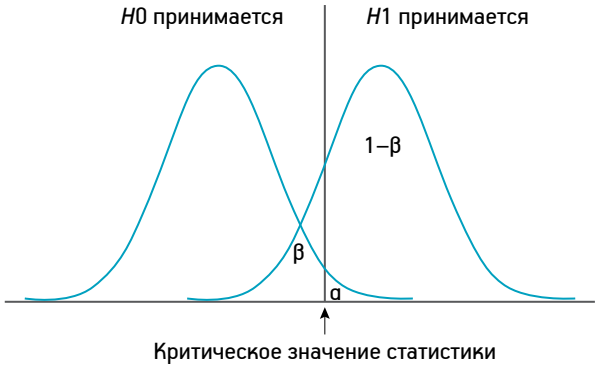
Рассмотрим ряд положений, которыми рекомендуется руководствоваться при анализе данных и принятии статистических решений [8, 9, 18, 19], и обсудим их справедливость.

1. Несостоятельность значений p<0,05 как основного показателя статистической значимости наблюдаемых эффектов. Критерий статистической значимости должен быть достаточно строгим, то есть пороговое значение α должно быть малым.

Комментарий. Это не совсем справедливо. Если посмотреть, например, на меру для определения вероятности различия между эмпирическим и теоретическим средним ($\bar{x}-\mu$) при известной дисперсии (σ^2), то видно, что если выборка имеет маленький размер, а дисперсия велика, то даже большие различия между, скажем, эмпирическим и теоретическим средними не будут достигать значимости:

$$z = \frac{\Delta = (\bar{x} - \mu)}{\sigma}\sqrt{n}.$$

Напротив, если n велико, то даже самые ничтожные различия в средних значениях будут значимы на высоких уровнях значимости. Таким образом, к выбору уровня значимости следует подходить избирательно. Если выборка мала и дисперсия ощутима, что часто бывает именно в физиологических исследованиях, то следует либо выбирать уровень значимости повыше, либо, следуя традициям 5 %, внимательно относиться к тенденциям к различию, то есть к результатам, когда вероятность оказывается в пределах 5–10 %. Опыт показывает, что увеличение выборки большей частью приводит к значимости, если выборка остается однородной. В биологии часто так и бывает — размеры выборок малы, дисперсии велики. Именно по этой причине в биологических исследованиях был принят уровень значимости 0,05.



Области принятия и отклонения гипотез

Если же выборка очень велика, что часто встречается в психологических, социологических и демографических исследованиях, то следует уменьшать уровень значимости. В противном случае самые ничтожные различия между параметрами будут значимы, что будет явно противоречить здравому смыслу.

Резюмируя, можно заключить, что значимое различие — это не то же, что интересующее различие, незначимое различие — это не то же самое, что нет различия.

Обычно первым шагом построения критерия значимости является выбор уровня значимости α и определение критической области на основании выборочного распределения статистики, относительно которой проверяется гипотеза. Если проверяемая гипотеза верна, то есть, например, эмпирическое среднее получено из совокупности с теоретическим средним μ, то критерий приведет к неверному решению — к непринятию гипотезы — в 100·α случаев и к верному решению — ее принятию в 100·(1–α) случаев. Эта вероятность α называется ошибкой первого рода. Если, напротив, проверяемая гипотеза неверна, то есть выборка принадлежит к генеральной совокупности со средним ξ, то вероятность того, что эмпирическое среднее попадет в критическую область, будет зависеть от ξ. Эта вероятность называется мощностью критерия относительно альтернативной гипотезы $H_1 \cdot \xi \neq \mu$. Если среднее значение равно ξ, то критерий приводит к верному решению, равному его мощности, и к неверному решению, равному (1-значение мощности). Эту ошибку обычно обозначают β и называют ошибкой второго рода (*рисунок*).

Таким образом, при принятии статистических решений исследователь сталкивается с двумя рисками:

• *вероятность, соответствующая решению отвергнуть нулевую гипотезу, когда она на самом деле верна, называется ошибкой первого рода, или риском I; ошибка первого рода равна уровню значимости α;*

• *вероятность, соответствующая решению принять нулевую гипотезу, когда она на самом деле неверна, называется ошибкой второго рода, или риском II; ошибка второго рода равна β* (табл. 3).

Так как α>0, то риск I существует всегда. Если α фиксировано и n фиксировано, то β тем больше, чем меньше α. Если n велико, то α и β могут быть очень малы. При малом n и малом α установить

фактическое различие трудно. Таким образом, значение β зависит от следующих причин:

1) от объема выборки; чем больше n, тем надежнее при выбранном α будет установлено различие между двумя совокупностями;

2) от степени различия, например расстояния между центрами совокупностей;

3) от свойства критериев, которое называется мощностью.

То есть при выборе α, помимо размера выборки и степени разброса данных, имеет смысл учитывать еще по возможности мощность критерия.

В рассмотренном примере при относительно небольших размерах групп и с учетом того, что критерий χ^2 довольно слабый, поскольку работает с бинарными переменными, получены очень неплохие результаты.

2. Необходимо приводить при расчетах мощность критерия.

Комментарий. Рассчитывать ошибку второго рода и/или мощность критерия желательно, но не всегда реально. Определение ошибки первого рода заложено в самом критерии, поскольку она основывается на выборочном распределении статистики критерия. С альтернативой все сложнее. Альтернативы бывают разные — простые и сложные, односторонние и двусторонние. Для каждого критерия мощность рассчитывается на основании соответствующего ему распределения вероятностей. До появления современной вычислительной техники для ряда критериев можно было рассчитать мощность на основании соответствующей формулы. Например, для критериев, основанных на нормальном распределении вероятностей при известной дисперсии генеральной совокупности и заданном уровне значимости α=0,05, расчет мощности можно провести согласно формуле:

$$1-\beta = P(z > \frac{\mu_0 + 1{,}64(SE) - \mu_1}{SE}),$$

где μ_0 — среднее при нулевой гипотезе; μ_1 — среднее при альтернативной гипотезе; 1,64 — величина критического значения z-статистики при одностороннем z-критерии; SE — стандартная ошибка.

В настоящее время проблема определения мощности упростилась. Так, например, Джейкоб Коэн в своей монографии [13] приводит большое число таблиц, с помощью которых можно определять мощность и необходимый объем выборки, не прибегая к трудоемким вычислениям.

Таблица 3

Ошибки первого и второго рода, мощность критерия

Решение по критерию	Истинная гипотеза	
	H_0 верна	H_0 неверна
H_0 отклоняется	Ошибка первого рода	Правильное решение
H_0 принимается	Правильное решение	Ошибка второго рода

К настоящему времени разработано большое количество статистических программ, предназначенных для анализа мощности.

3. Многократно повторять эксперименты или наблюдения и изучать, насколько их результаты согласуются друг с другом, то есть насколько они воспроизводятся.

Комментарий. Идея хорошая, но редко осуществимая в экспериментальных исследованиях. Откуда берется минимальный размер выборки n=6 для получения значимого эффекта и почему при испытаниях предлагается брать не менее шести случаев? Если последовательно бросать монету, то вероятность выпадения орла во всех испытаниях равна $(^1/_2)^k$, где k — число бросаний монеты. Поэтому значимая вероятность достигается начиная с k=6 (ρ=0,0156), *табл. 4*.

Таким образом, чтобы надежно подтвердить результаты эксперимента, его надо повторить по крайней мере 6 раз. Если во всех шести повторениях эксперимента будет достигнут значимый уровень, то можно считать, что явление имеет место быть с вероятностью ρ=0,0156.

Вернемся к примеру о применении препарата. Следуя этой логике, при изучении влияния пептидов на смертность пациентов следовало бы набрать добровольцев в возрасте 65–75 лет в необходимом количестве и в течение как минимум 6 раз по 12 лет наблюдать их смертность. Можно, конечно, делать это одновременно, набрав добровольцев в разных клиниках, а еще лучше — в зарубежных (там условия жизни стабильнее), однако реально ли это? В то же самое время из результатов исследо-

Таблица 4

Вероятность выпадения орла во всех испытаниях

n	1	2	3	4	5	6
2^n	2	4	8	16	32	64
$p={}^1/_2{}^n$	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,03125	0,01562

ваний В. Х. Хавинсона и соавт. следует, что ряд анализируемых в лонгитудинальных исследованиях параметров у пациентов значимо изменяется в лучшую сторону, что указывает на нормализующее влияние пептидных препаратов на состояние разных органов и систем организма [3, 4]. Здесь же стоит отметить, что точно также не имеет смысла формально вычислять необходимый размер выборок в условиях клинических и большой части фундаментальных исследований.

4. Эффект множественных сравнений и необходимость его учета при статистическом анализе.

Комментарий. Действительно, если мы имеем не две группы, а систему из нескольких групп, скажем, пациентов, подвергающихся воздействию разных стимулов, и нас интересует не только наличие значимого главного эффекта воздействия этих стимулов на зависимую, исследуемую в эксперименте переменную, но и конкретизация, какие именно стимулы и как влияют. Тогда исследуют постхоки (Post hocs), то есть проводят множественные (апостериорные) сравнения между разными группами при учете, что главный эффект значим. И в этом случае разумно при определенных обстоятельствах делать поправку на уровень значимости.

Часто используемая при этом поправка Бонферрони, например, хорошо контролирует ошибку первого рода, но вместе с тем является очень консервативной и приводит к уменьшению статистической мощности критерия и повышению вероятности ошибки второго рода, то есть вероятности принятия решения об отсутствии различий там, где **они на самом деле есть**. Либеральные критерии, например минимальной значимой разности, в свою очередь, завышают вероятность ошибки первого рода, то есть вероятность принятия решения о наличии различий там, где их нет. Таким образом, при выборе статистического критерия для апостериорных сравнений необходимо принимать во внимание как критерии контролируют ошибки первого и второго рода и как они работают при несоблюдении необходимых условий применения анализа данных.

Поясним смысл поправки при множественных сравнениях на примере. Исследуют влияние препаратов А и Б на уровень глюкозы плазмы. Исследование проводят на трех группах — получавших препарат А, получавших препарат Б и получавших плацебо В. С помощью t-критерия Стьюдента проводят три парных сравнения: группу А сравнивают с группой В, группу Б — с группой В и, наконец, А с Б. Получив достаточно высокое значение t в каком-либо из трех сравнений, сообщают, что $p<0{,}05$. Это означает, что вероятность ошибочного заключения о существовании различия не превышает 5 %. Но это неверно: вероятность ошибки значительно превышает 5 %. Поясним это. В исследовании был принят 5 % уровень значимости. Следовательно, вероятность ошибиться при сравнении групп А и В — 5 %. Казалось бы, все правильно. Но точно так же мы ошибемся в 5 % случаев при сравнении групп Б и В. И, наконец, при сравнении групп А и Б ошибка возможна также в 5 % случаев. Поэтому вероятность ошибиться *хотя бы в одном* из трех сравнении составит не 5 %, а значительно больше:

$$P'=1-(1-0{,}05)^3=1-0{,}95^3=0{,}143.$$

В общем случае эта вероятность равна $P'=1-(1-0{,}05)^k$, где k — число сравнений. Пояснение: $1-0{,}05$ — вероятность правильного решения при одном сравнении, $(1-0{,}05)^k$ — вероятность правильного решения при k сравнениях. При небольшом числе сравнений можно использовать приближенную формулу $P'=0{,}05k$, то есть вероятность ошибиться хотя бы в одном из сравнений примерно равна вероятности ошибиться в одном сравнении, помноженной на число сравнений. Таким образом, при трехкратном сравнении уровень значимости должен быть $0{,}05/3=0{,}017$. Если, однако, число сравнений превышает 8 (по другим данным — 5), метод становится слишком «строгим» и даже весьма большие различия приходится признавать статистически незначимыми.

5. Распространенной мерой силы в таблицах 2×2 является отношение шансов (Odds Ratio, OR). В руководствах и методических статьях по статистике давно рекомендуется, наряду со значениями p или даже вместо них, указывать доверительный интервал (ДИ) для размера эффекта. Считается, что практического внимания заслуживают те связи, для которых нижняя граница 95 ДИ ORL>2,2.

Комментарий. Действительно, наряду с уровнем значимости, в задачах прогнозирования (и не только) разумно приводить размер эффекта (ES — effect size). Под размером эффекта подразумевается количественное выражение эффекта, полученного в процессе применения критерия.

Зачем он нужен? Как было отмечено выше, при маленьких размерах выборок и больших разбросах нулевая гипотеза не отвергается даже при больших отличиях, например средних, и наоборот,

при очень больших размерах выборок нулевая гипотеза будет отвергаться в пользу альтернативы даже при совсем незначительных отклонениях. А размер эффекта может составить представление о том, насколько выражен эффект изучаемого явления.

Размер эффекта для каждого критерия свой. Для таблиц 2×2 им могут служить в зависимости от дизайна эксперимента: относительный риск *RR*, отношение шансов *OR*, коэффициенты сопряженности и т. п. Для *t*-критерия можно использовать эффект *d* — Коэна (Cohen's *d*) — $d = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{S}$, где $\bar{x}_1$ и $\bar{x}_2$ — эмпирические средние, *S* — взвешенное стандартное отклонение [13].

В многомерном дисперсионном анализе MANOVA в качестве критерия служит значение эта (η) квадрат — $\eta^2 = \frac{SS_{effect}}{SS_{total}}$ или $partial\,\eta^2 = \frac{SS_{effect}}{SS_{effect} + SS_{error}}$ — сила связи (ассоциации) между фактором и зависимой переменной, которая представляет собой отношение суммы квадратов, обусловленной эффектом (SS_{effect}), к общей сумме квадратов (SS_{total}) или к сумме двух сумм квадратов — обусловленной эффектом (SS_{effect}) и ошибочной (SS_{error}). В множественном регрессионном анализе размер эффекта можно характеризовать коэффициентом детерминации *R Square* (или *Adjusted R Square*), то есть долей дисперсии отклика *Y*, «объясненной» регрессией *Y* по *X*, иначе говоря, мерой качества подгонки [17].

В настоящее время существуют онлайн калькуляторы, при помощи которых можно рассчитать для ряда критериев не только размеры эффекта, но и их доверительные границы.

Поскольку в приведенном примере статистиками являются частоты событий, то размер эффекта в этом случае может быть измерен как отношение шансов. Приведем значения отношения шансов и доверительные 95 % интервалы к ним для данных примера о продолжительности жизни.

Определение отношения шансов OR

Шансы Ω_A пациенту выжить в течение определенного промежутка времени определяются как отношение вероятности выжить при условии приема препаратов к вероятности не выжить при условии их приема. Аналогично определяются шансы пациента контрольной группы выжить к вероятности не выжить в течение рассматриваемого срока наблюдения $\Omega_{\bar{A}}$. Отношение шансов пациенту выжить при приеме препаратов к шансам пациенту выжить без приема их за определенный промежуток времени *Odds Ratio (OR)* представляет собой отношение $OR = \Omega_A/\Omega_{\bar{A}}$.

Отношение шансов оценивает силу связи между принадлежностью к группе (принимают препараты/контроль) и исходом (жив/умер). Поскольку отношение шансов рассчитывается по наблюдаемым значениям, то оно является статистикой и для него требуется рассчитывать доверительные границы, которые, как правило, обозначаются через CI_{Lower} & CI_{Upper} [6].

Произведенные расчеты позволяют сделать следующие выводы (для исходного примера):

группа 1: вероятность (шанс) пациенту этой группы остаться живым превосходит в 3 раза этот показатель в контрольной группе *OR*=3, *CI*(1,9–7,5);

группа 2: вероятность (шанс) пациенту этой группы остаться живым превосходит в 1,8 раза этот показатель в контрольной группе *OR*=1,8, *CI*(0,5–6,6); *доверительный интервал содержит 1, результат незначим;*

группа 3: вероятность (шанс) пациенту этой группы остаться живым превосходит в 2,8 раза этот показатель в контрольной группе *OR*=2,8, *CI*(1,1–6,9);

группа 4: вероятность (шанс) пациенту этой группы остаться живым превосходит в 5,3 раза этот показатель в контрольной группе *OR*=5,3, *CI*(6,9–20,5).

Следует отметить, что некоторые калькуляторы дают более широкие границы доверительного интервала CI_{c1} и CI_{c2} (например [20]).

Получение увеличения вероятности остаться живым, например в 3 раза, — очень неплохой результат [*OR*=3, *CI*(1,9–7,5)]. Если же при работе с этими препаратами не наблюдалось отрицательных побочных эффектов, то можно заключить, что отсрочка применения их «здесь и сейчас» недопустима.

6. К анализу данных следует применять байесовский подход.

Комментарий. С 90-х гг. XX в. в среде математиков появился интерес к байесовскому (бейзовскому или бейзианскому — в современной транскрипции) подходу к анализу данных. В настоящее время в философских кругах идет дискуссия между сторонниками фреквентистского — частотного — и байесовского подхода к выводам в задачах принятия решений.

В 1763 г. была опубликована работа английского математика Томаса Байеса, содержащая формулу, позволяющую определить вероятность какого-либо события при условии, что произошло другое статистически взаимосвязанное с ним событие: $P(A/B) = (P(B/A)P(A))/P(B)$, где A и B — случайные события; $P(A)$ и $P(B)$ — вероятности наступления этих событий; $P(A/B)$ и $P(B/A)$ — условные вероятности: вероятность события A при условии того, что произошло событие B, и вероятность события B при условии того, что произошло событие A.

По формуле Байеса можно точнее пересчитать вероятность «следствия», взяв в расчет как ранее известную информацию или «причины» изучаемого явления, так и данные новых наблюдений. События, отражающие действие «причин», в данном случае называют *гипотезами*, так как они — *предполагаемые* события, повлекшие данное. Безусловную вероятность справедливости гипотезы называют *априорной* (насколько вероятна «причина» вообще), а условную — с учётом данных и факта произошедшего события — *апостериорной*. В такой трактовке: $P(A)$ — априорная вероятность, $P(A/B)$ — вероятность гипотезы A при наступлении события B (апостериорная вероятность), $P(B/A)$ — вероятность наступления события B при истинности гипотезы A и $P(B)$ — полная вероятность наступления события B.

В простейшем случае пример применения формулы Байеса выглядит так. Медицинский тест успешен на 95 % (точность определения болезни у больных или *вероятность того, что тест положителен, если человек болен*), какова вероятность того, что при диспансеризации человек, получивший положительный ответ, действительно болен (*апостериорная вероятность*)? В популяции болезнь встречается в 1% случаев (*априорная вероятность*).

P(пациент болен/тест положительный) = (P(тест положительный/пациент болен) · P(пациент болен))/P(тест положительный), то есть P(пациент болен/тест положительный) = 0,95·0,01/(0,95·0,01+0,05·0,99) = 0,16, $P(B)$ рассчитана по формуле полной вероятности: $P(B) = P(E_1)P(B/E_1)+P(E_2)P(B/E_2)$, где $P(E_1)$ — вероятность наличия болезни; $P(E_2)$ — вероятность отсутствия болезни; $P(B/E_1)$ — вероятность наличия положительного теста при условии наличия болезни; $P(B/E_2)$ — вероятность наличия положительного теста при условии отсутствия болезни; $P(A)$ — априорная вероятность того, что пациент болен.

Таким образом, вероятность о наличии болезни у пациента с учетом информации о результатах тестирования равна 0,16.

Байесовский подход основан на двух положениях: 1) степень нашей уверенности в справедливости некоторого утверждения численно выражается в вероятности; 2) при принятии решения в качестве исходной информации используется одновременно информация двух типов — априорная и содержащаяся в исходных статистических данных.

Априорная информация представлена в виде некоторого априорного распределения вероятностей анализируемого неизвестного параметра, которое описывает степень уверенности исследователя в том, что этот параметр примет то или иное значение еще до начала сбора исходных статистических данных. По мере поступления последних это распределение уточняется, переходя от априорного распределения к апостериорному согласно формуле Байеса. Байесовский подход обычно рассматривается как способ переоценки наших представлений с помощью данных опыта.

Вот как характеризует байесовский подход американский ученый, сторонник байесовского подхода, S. N. Goodman [14]: «При использовании частотного подхода наибольшую трудность представляет формирование выводов на основании результатов отдельного эксперимента: отрицание роли внешней информации создает серьезные практические и логические проблемы. Однако метод Байеса, предложенный для индуктивной обработки данных отдельного эксперимента, тоже не гарантирует, что выводы, в которых сегодня исследователь уверен на 95 %, будут заслуживать такого же доверия завтра. Дело в том, что распределение априорных вероятностей не лучшим образом отражает наши знания (или недостаток знаний), а теорема Байеса представляет собой несовершенную модель познания… в статистике, как и в жизни, нет и не может быть методов, позволяющих оценить конкретную ситуацию и одновременно предсказать, каким образом изменится наше отношение к этой ситуации в будущем».

Хотя в настоящее время байесовский подход находит применение, например, в информационных, политических, социологических технологиях, методах Data Mining, но в фундаментальных исследованиях его применение в некоторых случаях не нужно, а в некоторых — просто технически невозможно. Помимо этого, в настоящее вре-

мя спор между сторонниками байесовского подхода *vs* фреквентистского носит характер дискуссии в среде профессиональных математиков и требуется некоторое время, чтобы все *pro et contra* были убедительно доведены до научной общественности. Таким образом, в общем случае для использования байесовского похода нужно собрать материал по интересующей проблеме, провести разведывательный анализ данных, определить совокупность априорных вероятностей, а потом воспользоваться, например, программой WinBUGS.

7. Следует вычислять Бейзов фактор (фактор Байеса).

Комментарий. Да, можно использовать фактор Байеса как дополнительную характеристику при принятии статистических решений, например в задачах прогноза, если доступны технические средства для его расчета.

Фактор Байеса — это отношение вероятностей правдоподобия двух конкурирующих гипотез, обычно это нулевая гипотеза и альтернатива. Если мы хотим сделать выбор между двумя моделями M_1 и M_2 на основании наблюдаемых данных D, то правдоподобие двух моделей определяется фактором Байеса (Бейза) как $BF=(P(M_1/D)\cdot P(M_2))/(P(M_2/D)\cdot P(M_1))$.

Когда модели имеют одинаковые априорные вероятности $P(M_1) = P(M_2)$, то фактор Байеса равен отношению апостериорных вероятностей M_1 и M_2.

Рассмотрим пример. Пусть проверяется гипотеза о принадлежности неизвестного параметра известного распределения к одному из двух непересекающихся подмножеств значений — нулевая гипотеза, или ко второму подмножеству — альтернатива. Обозначим априорные вероятности принадлежности к этим множествам — π_0 и π_1, $\pi_1=1-\pi_0$. Пусть ρ_0 и ρ_1 — апостериорные вероятности принадлежности этого параметра к одному из двух подмножеств, соответствующих нулевой гипотезе и альтернативе, полученные с учетом наблюдаемых данных, $\rho_1=1-\rho_0$. Априорные шансы нулевой гипотезы против альтернативы равны π_0/π_1, апостериорные шансы равны ρ_0/ρ_1. Предполагается, что вероятности нулевой гипотезы и альтернативы равны.

Байесовским фактором B_{01} гипотезы H_0 против гипотезы H_1 в этом случае будет отношение апостериорных шансов к априорным шансам:

$$B_{01} = \frac{\rho_0/\rho_1}{\pi_0/\pi_1} = \frac{\rho_0\,\pi_1}{\rho_1\,\pi_0} = \frac{\rho_0(1-\pi_0)}{(1-\rho_0)\pi_0},$$

$$B_{10} = 1/B_{01}.$$

Существуют разные способы ранжирования полученных значений фактора Байеса по степени того, какая из двух гипотез больше поддерживается экспериментальными данными.

8. Retire statistical significance vs Do not abandon significance.

> Математическая статистика — совокупность методов, которые дают возможность принимать оптимальные решения в условиях неопределенности.
>
> *Абрахам Вальд* (математик и статистик)

Завершая работу, коснемся темы, уже не одно десятилетие широко обсуждаемой в кругах математических статистиков, — быть или не быть *p-value*. А именно, претензии предъявляются к принятию статистических решений на основании превышения, например, 5 % порога вероятности p, рассчитываемой на основании тестирования экспериментальных данных. Ряд критических замечаний по поводу принятия статистических решений не только на основании уровня значимости (*p-value*), но и учета размера выборки, ошибки второго рода (мощности критерия), размера критерия, а также априорной информации, позволяющей применять байесовский подход, мы уже привели выше.

Однако основная полемика разворачивается вокруг призыва отменить дихотомическую категоризацию при принятии решений о значимых или незначимых эффектах в зависимости от того, больше или меньше значение p выбранного или принятого в конкретной области знаний порога, например 0,05, или, что эквивалентно, включает доверительный интервал ноль или не включает.

Вкратце аргументация сторонников отмены «значимости» сводится к следующему. Получение, скажем, незначимых результатов при проверке статистических гипотез может не согласовываться с наблюдаемым большим эффектом или различием. Это может привести к потере важной информации и к ложным выводам. Например, в нашем примере в группе пациентов 60–74 лет не получено значимых различий в частоте выживания ($p>0,05$), доверительный интервал отношения шансов содержит 1, значит, результат незначим.

Однако само отношение шансов равно OR=1,8, CI(0,5–6,6), то есть вероятность остаться в живых при приеме препаратов почти в 2 раза превосходит таковую в контрольной группе. Для клинициста это может служить важным указанием на то, что, возможно, и в этой группе есть эффект приема препаратов, однако вследствие небольшого размера групп это эффект не был выявлен. Следует отметить, что многолетний собственный опыт работы с экспериментальными данными говорит о том, что, как правило, тенденции к различию становятся значимыми при увеличении размера выборки.

Иначе говоря, сторонники отказа от «значимости» предлагают не так категорично интерпретировать незначимые результаты, как «отсутствие различий» или «отсутствие эффекта». Они справедливо утверждают, что «все статистические данные, в том числе p-значения и доверительные интервалы, естественно варьируются от исследования к исследованию и часто делают это в удивительной степени. На самом деле, случайное изменение само по себе может легко привести к большим различиям в значениях p, выходящим далеко за порог 0,05 как в одну, так и в другую сторону даже при очень высокой репликации (воспроизводимости) эффекта при повторных испытаниях» [11].

Указывая на неопределенность статистических выводов, сторонники отказа от «значимости» тем не менее не отвергают необходимости применения статистических критериев и расчета значений p, хотя и предлагают приводить интервальные, а не точечные оценки: «Как будет выглядеть отказ от статистической значимости? Мы надеемся, что разделы методов и табуляции данных будут более подробными и детальными. Авторы будут подчеркивать свои оценки и неопределенность в них, например путем обсуждения нижнего и верхнего пределов их (доверительных) интервалов. Они не будут руководствоваться тестами значимости. Значения p будут даны с разумной точностью (например, p=0,021 или p=0,13) — без „украшений", таких как звезды или буквы, для обозначения статистической значимости, а не в виде бинарных неравенств (p<0,05 или p>0,05). Решения об интерпретации или публикации результатов не будут основаны на статистических пороговых значениях. Исследователи будут тратить меньше времени на статистическое программное обеспечение и больше думать» [11].

Противники отказа от «значимости», не отказываясь от принятия статистических решений на основании p-*value*, до некоторой степени признают справедливость сторонников отказа в том, что не следует опираться только на формальные результаты применения статистических тестов, а выводы должны основываться в том числе и на разносторонних и содержательных результатах, включая важные эффекты, пока не подтвержденных статистически.

Сторонники менее радикального подхода отмечают, что во многих областях науки, от физики до социологии и медицины, выводы неизбежно дихотомичны — да или нет. Дихотомические решения являются правилом медицины и мероприятий общественного здравоохранения, если речь идет, например, о принятии решения, будет лицензирован новый препарат либо нет, использовать новый метод диагностики/лечения или нет и т. п. При этом личные предпочтения могут приводить к необоснованным или предвзятым выводам, например: «какой процент питательных веществ влияет на риск возникновения рака? Некоторые скептики расстраиваются, потому что имеют малую значимость для больших эффектов. Наоборот, для некоторых энтузиастов пищевого канцерогенеза слабые сигналы заслуживают серьезного и достойного внимания» [15].

Статистический анализ часто представляет собой единственную возможность дать объективную оценку ситуации. Но при этом к проведению эксперимента необходимо предъявлять строгие требования. Следует очень тщательно продумывать дизайн исследований, необходимо, по возможности, предварительно провести исследование репликации («проверку воспроизводимости эффекта»), заранее продумать, какие тесты будут наиболее адекватны при анализе данных. Не вызывает сомнения тот факт, что интерпретация любого результата гораздо сложнее, чем просто тестирование значимости, но это тестирование является отправной точкой.

Значимость (не только статистическая) важна как для науки, так и для научно обоснованных действий. «Если убрать заранее определенные правила принятия решений, большинство исследовательских разработок и результатов анализа данных будут открыты для манипуляций этими данными и искажения выводов с целью анонсирования получения важного результата. Прохождение порога „статистической значимости" является традиционным правилом в этом отношении. Низкий барьер, такой как p<0,05, обычно слишком легко пройти. Следовательно, один из вариантов — увеличить требования к этому барьеру. Многие обла-

сти науки (например, молекулярная и генетическая эпидемиология) уже сделали это. Предложение полностью снять барьер вовсе не означает, что ученые не захотят интерпретировать свои результаты как существенные эффекты в соответствии с предвзятыми представлениями». «Во многих областях исследований (от экспериментов на животных до популяционных исследований и даже клинических испытаний) существуют серьезные пробелы в способах их проведения, анализа и в отчетах об исследованиях, помимо этого, они слабо защищены от предвзятости» [15].

Таким образом, сторонники гибкого подхода к решению проблем статистических выводов, анализируя все *pro et contra*, признают несовершенство использования жесткого универсального порога для принятия решения значимо—незначимо, однако настаивают на необходимости выработки универсальных правил для представления доказательной базы наличия или отсутствия эффекта в научных исследованиях. При этом они особенно подчеркивают важность детальной проработки плана эксперимента, качества его проведения и — после получения формальных результатов, таких как результаты статистического тестирования, — подробного содержательного обсуждения выводов.

В заключение, следуя мнению сторонников сохранения *p-value*, можно утверждать следующее. «Статистические вычисления в научной работе требуют улучшения. Отказ от статистической значимости (то есть порога для принятия статистического решения) при сохранении значений p (или доверительных интервалов) не улучшит выводы, но будет способствовать статистической путанице и создаст проблемные вопросы при интерпретации исследований, приведет к „статистической анархии". Единообразие в статистических правилах и процессах облегчает сравнение и позволяет избежать того, чтобы некоторые ассоциации и эффекты были бы более привилегированными, чем другие неоправданным образом. Без четких правил анализа наука будет в меньшей степени полагаться на данные и доказательства, а более на субъективные мнения и интерпретации» [15].

Таким образом, как итог длительной полемики между сторонниками и противниками «значимости» — математики должны выработать четкие правила выбора в условиях неопределенности, в противном случае в науке установится полный хаос.

Заключение

В данной работе рассмотрено несколько проблем, связанных с особенностями принятия статистических решений, выбора критериев и расчета характеристик, позволяющих усилить доказательную базу выводов, полученных при анализе данных. В статье не затронуто множество других важных вопросов, скажем, проблем выбора самих критериев при конкретном дизайне эксперимента, устойчивость (робастность) критериев к отклонениям от исходных предположений (например, отклонениям от нормальности распределений), влияние коллинеарности (взаимозависимости) переменных на устойчивость статистических процедур в методах множественного регрессионного анализа, многомерного дисперсионного и факторного анализа, вопросы линейных и нелинейных связей и многое другое. Все эти вопросы требуют детального исследования при разведывательном анализе. Однако цель этой работы состояла, с одной стороны, в обсуждении основополагающих положений математической статистики, общих для всех методов, а с другой — в кратком изложении обсуждаемых в математической среде подходов к анализу данных и целесообразности их применения.

На примере было показано, какие дополнительные характеристики следует рассчитывать для усиления надежности выводов, а какие рассчитывать нецелесообразно для решения данной задачи.

Приведенные выше рассуждения дают представление о том, что искусство корректного исследования экспериментальных данных методами математической статистики не может быть исчерпано однозначными указаниями. Работа с полученными в ходе экспериментов результатами требует не только специальной математической подготовки, но еще и длительного практического опыта анализа наблюдений, получаемых в разных областях науки.

При подготовке статьи использованы материалы курса лекций, разработанного и прочитанного для аспирантов — биологов, психологов и врачей — Института физиологии им. И. П. Павлова РАН Е. А. Вершининой. Курс основан на современных методах анализа данных с учетом международных стандартов, в нем используются примеры и приемы из собственной многолетней практики решения конкретных проблем, связанных с анализом экспериментальных данных.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. *Бююль А., Цефель П.* SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей (пер. с нем.). СПб.: DiaSoft, 2005.

2. *Вестник* Геронтологического общества РАН. Информационный бюллетень № 1–3 (211–213), январь—фев-

раль 2019 г. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10383350 https://www.mediasphera.ru/journals/mjmp/2002/2/r2-02-1.htm

3. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б. Пинеальная железа: пути коррекции при старении. СПб.: Наука, 2006.

4. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Бутенко Г.М., Шатило В.Б. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002.

5. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б., Антонюк-Щеглова И.А. Пептидный геропротектор из эпифиза замедляет ускоренное старение пожилых людей: результаты 15-летнего наблюдения // Бюл. экспер. биол. мед. 2011. Т. 151. С. 343–347.

6. Флейс Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций. М.: Финансы и статистика, 1989. С. 74–86.

7. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. 35-летний опыт исследований пептидной регуляции старения // Успехи геронтол. 2009. Т. 22. № 1. С. 11–23.

8. Хромов-Борисов Н.Н. Бейзовский анализ качества диагностических тестов // Превентивная медицина сегодня, 2014. http://prev-med.ru/zhurnal.aspx

9. Хромов-Борисов Н.Н. Корректный статистический анализ частот генотипов по генам семейств ucp и ppar в группе жителей блокадного Ленинграда и контрольной группе // Успехи геронтол. 2016. Т. 29. № 3. С. 454–460.

10. Хромов-Борисов Н.Н. Гармонизированный статистический анализ влияния геропротекторных пептидов на продолжительность жизни у человека // В сб.: Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины: Материалы IV Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины — возможное и реальное». 29 ноября — 2 декабря 2017 г. СПб.: Изд-во СПбГЭУ, 2017. С. 74–76.

11. Amrhein V., Greenland S., McShane B. Retire statistical significance // Nature. 2019. Vol. 567. P. 305.

12. Anisimov V.N., Khavinson V.K. 2010, Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. Vol. 11. P. 139–149. doi 10.1007/s10522-009-9249-8

13. Cohen J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. Second Edition // Lawrence Erlbaum Associates, publishers. http://www.utstat.toronto.edu/~brunner/oldclass/378f16/readings/CohenPower.pdf

14. Goodman S.N. Toward evidence-based medical statistics. 2: The Bayes factor // Ann. intern. Med.1999. Vol. 130. P. 1005–1013.

15. Ioannidis J.P.A. The Importance of Predefined Rules and Prespecified Statistical Analyses // J.A.M.A. Publ. online. 2019.

16. Khavinson V.K., Morozov V.G. Peptides of pineal gland and thymus prolong human life // Neuroendocrinol. Lett. 2003. Vol. 24. P. 233–240.

17. Tabachnick B.G., Fidell L.S. Using Multivariate Statistics. Harper Collins College Publishers, 1996. California State University Northridge (6th Ed., 2014).

18. http://www.academia.edu/4760770/Modern_Free_Biostatistical_Software_PPT.pdf

19. https://www.facebook.com/groups/klnran/permalink/857320014379204/?comment_tracking=7B22tn223A22O227D

20. http://statpages.info/ctab2x2.html

Поступила в редакцию 06.09.2019
После доработки 30.09.2019
Принята к публикации 03.10.2019

Adv. geront. 2019. Vol. 32. № 6. P. 1052–1062

E. A. Vershinina[1], *G. L. Safarova*[2]

ON THE USE OF MATHEMATICAL STATISTICS METHODS IN CLINICAL AND EXPERIMENTAL STUDIES

[1] I. P. Pavlov Institute of Physiology of RAS, 6 Makarova emb., St. Petersburg 199034, e-mail: ver_elen@mail.ru;
[2] Institute for Regional Economic Studies, RAS, 38 Serpukhovskaya str., St. Petersburg 190013,
e-mail: gaia-s@mail.ru

In the paper a number of issues, including conceptual ones, related to the specific features of making statistical decisions, choosing tests and computing characteristics that will strengthen the evidence base of the conclusions obtained when analyzing data using methods of mathematical statistics, are considered. The paper aims not to describe the methods of mathematical statistics themselves, but to analyze the conditions and the need to apply the most common tests. In particular, the magnitude of the indicator of the statistical significance of the observed effects — *p*-value — and the sample size to obtain a significant effect are discussed, the effect of multiple comparisons, the application of the Bayesian approach, and others are considered.

Key words: *data analysis, statistical significance, p-value, statistical decisions, statistical test*

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ В 2019 г. (Т. 32, № 1–6)

Alaali Z. 6, 1023–1033[1]
Alalwan T.A. 6, 1023–1033
Allegrini P. 6, 1023–1033
Al-Thawadi S. 6, 1023–1033
Asiamah N. 1–2, 234–242; 4, 652–657

Bielakova K. 5, 787–794
Bobak M. 3, 422–430
Borkey R. 4, 652–657

Eduafo R. 1–2, 234–242; 4, 652–657

Gasparri C. 6, 1023–1033

Holmes M. 3, 422–430
Hrubanova J. 5, 787–794
Hubacek J. 3, 422–430

Iannello G. 6, 1023–1033
Infantino V. 6, 1023–1033
Isu A. 6, 1023–1033

Jarkovsky J. 5, 787–794

Kouveliotis K. 1–2, 234–242; 4, 652–657

Matejovska-Kubesova H. 5, 787–794
Meluzinova H. 5, 787–794

Niewiński G. 5, 843–848

Perna S. 6, 1023–1033
Peroni G. 6, 1023–1033
Petersen C. 1–2, 234–242; 4, 652–657
Polcarova V. 5, 787–794
Przybyłkowski A. 5, 843–848

Riva A. 6, 1023–1033
Rondanelli M. 6, 1023–1033

Spadaccini D. 6, 1023–1033
Szeligowska J. 5, 843–848
Szymańska M. 5, 843–848

Weber P. 5, 787–794
Weberova D. 5, 787–794

Авдеева И.В. 6, 996–1002
Агарков Н.М. 4, 530–535
Адлейба Л.З. 1–2, 128–132
Айдумова О.Ю. 5, 819–823
Айтбаев К.А. 1–2, 20–28
Александрова М.Л. 6, 990–995
Аллахвердиев А.Р. 3, 383–389
Аминова Г.Г. 4, 606–613
Ананян А.А. 1–2, 93–101
Анисимов В.Н. 1–2, 66–75; 3, 325–330; 3, 347–356; 6, 889–900
Антонюк М.В. 6, 948–958
Артемова А.С. 5, 758–764
Архипова Н.С. 1–2, 152–158
Арьев А.Л. 4, 614–626
Ахметшин И.М. 6, 1039–1044

Бабийчук В.Г. 5, 711–717
Бабийчук Л.В. 5, 711–717
Багметова В.В. 1–2, 29–37
Баева В.М. 1–2, 180–184
Бажанова Е.Д. 6, 915–922
Баженова О.В. 5, 748–757
Базиян Е.В. 1–2, 38–44
Байрамова Е.О. 3, 383–389
Балашова Н.В. 5, 743–747
Балашова Н.Н. 1–2, 38–44
Бальберт А.А. 5, 795–803
Барановский А.Ю. 5, 837–842
Бахтюков А.А. 1–2, 85–92; 3, 431–438
Баюнова Л.В. 6, 941–947
Белов В.Г. 3, 439–444
Белякова А.С. 1–2, 218–226
Березуцкий М.А. 5, 702–710
Береснева О.Н. 4, 614–626
Бериханова Р.Р. 1–2, 159–165
Берко О.М. 1–2, 85–92
Блинков Ю.Ю. 4, 530–535
Бобошко М.Ю. 1–2, 166–173
Бобровская О.Н. 6, 870–881
Богова О.Т. 1–2, 250–255; 5, 781–786; 6, 1011–1016
Бодэ И.И. 5, 686–692
Божков А.И. 1–2, 45–54
Болдуева С.А. 1–2, 137–144
Болотова Е.В. 1–2, 102–107
Бондарь А.Ю. 1–2, 45–54
Боровкова Т.А. 6, 1045–1051
Бродовская Т.О. 5, 748–757
Будник И.В. 4, 530–535
Булгакова С.В. 3, 405–414
Бунин В.А. 3, 364–369
Буркин М.М. 4, 558–564
Бурцев А.К. 1–2, 203–206
Бывальцев В.А. 1–2, 189–197; 5, 804–811

Варсегова Т.Н. 5, 812–818
Васильева А.В. 3, 397–404
Васильченко Е.М. 1–2, 256–261
Венгерин А.А. 3, 316–324
Верташ О.Ю. 1–2, 215–217; 4, 599–601
Вершинина Е.А. 6, 1052–1062
Ветошева В.И. 1–2, 121–127
Виноградова И.А. 3, 347–356
Власова А.В. 3, 375–382
Власова Я.А. 5, 702–710
Внуков В.В. 1–2, 93–101
Воевода М.И. 3, 422–430
Володин В.В. 1–2, 121–127
Володина С.О. 1–2, 121–127
Воробьева О.В. 6, 959–963
Воронцова О.А. 1–2, 262–272

Гайфулин Р.А. 4, 581–591
Гайфулина Е.Н. 4, 581–591
Галагудза М.М. 1–2, 85–92; 6, 964–975
Ганцев К.Ш. 3, 462–468
Ганцев Ш.Х. 3, 462–468
Гарганеева А.А. 4, 565–571
Гашимова У.Ф. 3, 383–389; 4, 572–580
Гвалдин Д.Ю. 1–2, 93–101
Гвозденко Т.А. 6, 948–958
Гизингер О.А. 4, 668–675
Гималдинова Н.Е. 6, 959–963
Глазачев О.С. 1–2, 145–151
Глазунова Г.М. 6, 882–888
Глушков Н.И. 5, 758–764
Гоголашвили Н.Г. 4, 592–598
Голобородько В.Ю. 1–2, 189–197
Голованова Л.Е. 1–2, 166–173
Головина О.В. 5, 781–786
Голубев А.Г. 1–2, 66–75; 3, 325–330
Голубцова Н.Н. 1–2, 12–19; 3, 357–363; 4, 509–515; 5, 725–731
Гончарова Н.Д. 3, 316–324
Гончарова О.В. 5, 781–786
Горбатенкова С.В. 5, 781–786
Гордиенко А.В. 6, 1039–1044
Горелик С.Г. 1–2, 243–249
Горшунова Н.К. 5, 765–770
Гребнев Д.Ю. 3, 370–374
Гришечкин С.Д. 1–2, 227–233
Гришина И.Ф. 5, 748–757
Губарева Е.А. 3, 325–330
Гудошников В.И. 3, 311–615
Гузеев М.А. 6, 935–940
Гуляев Н.И. 4, 545–549; 6, 1039–1044
Гунин А.Г. 1–2, 12–19; 3, 357–363; 4, 509–515; 5, 725–731
Гутоп Е.О. 6, 908–914

[1] Номер тома, страницы.

Давыдова Н.Е. 3, 456–461
Данилов М.А. 4, 627–632
Девяткин В.А. 6, 901–907
Денисов А.П. 1–2, 108–111
Денисова О.А. 1–2, 108–111
Деркач А.В. 6, 1017–1022
Деркач К.В. 1–2, 85–92; 3, 431–438
Дзиковицкая Л.С. 1–2, 218–226
Долгова В.И. 4, 668–675
Долтмурзиева Н.С. 1–2, 93–101
Донсков В.В. 1–2, 133–136
Доронцев А.В. 1–2, 207–210
Дробинцева А.О. 4, 524–529
Дубров В.Э. 1–2, 198–202
Дудник Е.Н. 1–2, 145–151
Дудникова А.В. 1–2, 102–107
Дудченко Г.П. 1–2, 29–37
Дурнова Н.А. 5, 702–710
Дьячкова-Герцева Д.С. 3, 469–476
Дятлова А.С. 6, 908–914

Екимова И.В. 6, 935–940
Епанчинцева Е.А. 5, 737–742
Ершов Е.В. 3, 439–444
Есаян А.М. 4, 614–626
Ефремова В.П. 6, 930–934

Жаринов Г.М. 6, 889–900

Задворьев С.Ф. 3, 415–421
Зайцева М.А. 6, 990–995
Замыцкая А.А. 3, 415–421
Запара М.А. 1–2, 145–151
Заплутанов В.А. 3, 439–444
Захаров В.И. 1–2, 133–136
Захаров К.И. 3, 439–444
Захарова И.О. 6, 941–947
Захарова Н.О. 3, 405–414
Зинчук Н.А. 1–2, 207–210
Злоказова М.В. 3, 456–461
Золотовский В.А. 1–2, 282–289
Зорина И.И. 1–2, 85–92; 3, 431–438; 6, 941–947

Иванов Е.Г. 1–2, 45–54
Иванов М.А. 5, 758–764
Иванов М.В. 1–2, 60–65
Иванов С.В. 4, 581–591
Иванова Л.Г. 3, 316–324
Иванощук Д.Е. 3, 422–430
Иванцов А.О. 3, 431–438
Иващенко Д.В. 5, 781–786
Ивко К.О. 1–2, 203–206
Ижнина Е.В. 1–2, 227–233
Ильина Е.С. 5, 781–786
Ильницкий А.Н. 1–2, 203–206; 1–2, 243–249; 6, 996–1002
Илюха В.А. 3, 347–356
Иорданишвили А.К. 3, 477–482; 5, 824–828
Ичитовкина Е.Г. 3, 456–461

Кабалык М.А. 4, 550–557
Кадимова З.М. 4, 572–580
Калинин А.А. 1–2, 189–197; 5, 804–811
Калинский Е.Б. 1–2, 185–188
Караваева Т.А. 3, 397–404
Карташова Е.А. 6, 1003–1010
Касумов Ч.Ю. 3, 383–389
Каюков И.Г. 4, 614–626
Квасов Е.А. 1–2, 166–173
Кветной И.М. 3, 364–369; 4, 524–529; 5, 686–692
Кирсанова А.Ю. 5, 812–818
Кича Д.И. 4, 530–535
Климова Е.М. 1–2, 45–54
Коваленко Т.С. 4, 550–557
Ковин Е.А. 5, 748–757
Ковязина В.П. 5, 837–842
Козина Л.С. 4, 545–549; 6, 990–995
Козлов К.Л. 4, 545–549
Козлова М.В. 1–2, 218–226
Колесникова Л.И. 4, 502–508
Колосова Н.Г. 6, 901–907
Кондашевская М.В. 5, 718–724
Кондрашина Э.А. 5, 837–842
Коптев Д.С. 4, 530–535
Корнилова Н.К. 4, 509–515; 5, 725–731
Корнюшин О.В. 1–2, 85–92
Коровин Е.Н. 4, 530–535
Королькова Т.Н. 5, 829–836
Костин В.В. 5, 812–818
Костюченко Л.Н. 4, 627–632
Костюченко М.В. 4, 627–632
Кофлер В.В. 1–2, 145–151
Кочурова Е.В. 1–2, 227–233; 4, 602–605
Краснова А.А. 6, 990–995
Крохалев В.Я. 3, 370–374
Круглов А.Д. 4, 627–632
Кузник Б.И. 1–2, 174–179
Кузовенкова М.Ю. 4, 633–638
Кузьменко Н.В. 1–2, 76–84; 6, 964–975
Кузьмина Т.Н. 4, 627–632
Куколь Л.В. 3, 445–450
Куликов А.Н. 6, 1039–1044
Кун О.А. 1–2, 108–111
Курашова Н.А. 4, 502–508
Кустова М.В. 1–2, 29–37
Кутукова К.А. 1–2, 60–65
Кучер А.Г. 4, 614–626
Кушниренко Я.Н. 1–2, 133–136
Кытикова О.Ю. 6, 948–958

Лабунец И.Ф. 3, 338–346
Лапина Н.В. 1–2, 227–233
Лаптева Е.С. 1–2, 166–173; 3, 469–476
Лебедева Е.А. 1–2, 128–132; 3, 405–414
Лерман Я. 3, 331–337
Ливзан М.А. 1–2, 108–111
Линькова Н.С. 3, 364–369; 6, 908–914
Литвинова Л.С. 1–2, 85–92
Ломако В.В. 1–2, 55–59; 6, 923–929
Лохматова В.В. 1–2, 128–132
Лычкова А.Э. 4, 627–632
Любимов А.И. 4, 545–549
Люцко В.В. 1–2, 243–249

Мадаева И.М. 4, 502–508
Майдин М.А. 3, 325–330
Маклакова И.Ю. 3, 370–374
Маковский А.А. 1–2, 198–202
Максимов В.Н. 3, 422–430
Малютина С.К. 3, 422–430
Мамедов М.Н. 1–2, 203–206
Мамонтова А.Г. 4, 516–523
Мамылина Н.В. 4, 668–675
Мартынов А.А. 3, 375–382
Марченко Н.В. 5, 837–842
Медведев Д.С. 4, 545–549; 5, 686–692
Меметов С.С. 1–2, 211–214; 4, 664–667
Мерабишвили В.М. 3, 301–310
Микуленене С. 1–2, 273–281
Милютина Н.П. 1–2, 93–101
Миненко И.А. 1–2, 159–165
Миронова Е.С. 3, 364–369
Михайлова С.В. 3, 422–430
Михайлянц Г.С. 4, 627–632
Михальский А.И. 6, 889–900
Михеева Н.А. 4, 545–549
Мкртумян А.М. 1–2, 218–226
Молчанова Е.В. 4, 558–564
Муралева Н.А. 6, 901–907
Муркамилов И.Т. 1–2, 20–28
Мустафин Р.Н. 5, 693–701
Муханов А.А. 4, 602–605
Мякотных В.С. 1–2, 112–120; 3, 390–396; 4, 492–501; 5, 795–803; 6, 1045–1051

Назарян М.Г. 1–2, 215–217; 4, 599–601
Невзорова В.А. 4, 550–557
Некласова Н.Ю. 6, 889–900
Нестеренко С.А. 3, 405–414
Нестеров Ю.В. 6, 985–989
Никель В.В. 6, 930–934
Николенко В.Н. 4, 602–605
Никольская К.А. 5, 718–724
Новгородцева Т.П. 6, 948–958

Новикова Е.Г. 5, 737–742
Новрузова А.А. 5, 849–852
Носкова И.С. 6, 996–1002
Носкова К.К. 4, 627–632

***О**ганян Т.Э.* 3, 316–324
Огиенко С.Л. 1–2, 45–54
Оконешникова А.К. 5, 804–811
Олексюк И.Б. 4, 545–549
Орлов М.А. 4, 639–651
Орлов П.С. 3, 422–430
Орлова О.А. 6, 908–914
Остапчук Е.С. 3, 390–396
Островский О.В. 1–2, 29–37

***П**азенко Е.В.* 5, 837–842
Пальгова Л.К. 5, 837–842
Пальцев М.А. 3, 364–369
Панченко А.В. 3, 325–330
Парастаева М.М. 4, 614–626
Парфенов С.А. 3, 439–444
Парфенов Ю.А. 3, 439–444
Пастухов Ю.Ф. 6, 935–940
Перетолчина Т.Ф. 5, 748–757
Перминова А.А. 3, 431–438
Перфилова В.Н. 1–2, 29–37
Пестряков Ю.Я. 1–2, 189–197
Петрова А.И. 1–2, 137–144
Петрова В.Б. 1–2, 137–144
Петросян М.А. 1–2, 38–44
Пинхасов Б.Б. 5, 737–742
Пискунов Д.П. 3, 415–421
Плисс М.Г. 1–2, 76–84; 6, 964–975
Плотников А.А. 1–2, 93–101
Подопригора Г.М. 3, 469–476
Полоник С.Г. 6, 935–940
Полякова В.О. 4, 524–529; 5, 686–692
Полянских Л.С. 1–2, 38–44
Попов И.О. 1–2, 152–158
Попова Е.К. 1–2, 152–158
Попова Е.П. 6, 1011–1016
Попова Т.А. 1–2, 29–37
Попович И.Г. 1–2, 66–75
Поспелов Д.Ю. 1–2, 93–101
Потапов В.Н. 1–2, 250–255; 5, 781–786
Прашнова М.К. 5, 837–842
Прокофьев И.И. 1–2, 29–37
Прощаев К.И. 1–2, 243–249; 1–2, 203–206; 6, 996–1002
Птахина И.В. 1–2, 262–272; 4, 536–544
Пуздряк П.Д. 5, 758–764
Пузин С.Н. 1–2, 250–255; 4, 599–601; 5, 781–786; 6, 1011–1016
Пупышев С.А. 3, 445–450
Пушкин А.С. 3, 415–421; 5, 771–780; 6, 976–984

***Р**абинович А.П.* 3, 331–337
Рабинович П.Д. 3, 331–337
Разыграев А.В. 1–2, 38–44
Райхельсон К.Л. 5, 837–842
Раполене Г. 1–2, 273–281
Рассоха А.А. 3, 456–461
Рашидова А.М. 4, 572–580
Родичкина В.Р. 4, 524–529
Родниченко А.Е. 3, 338–346
Романова И.В. 3, 431–438
Рубанова Н.С. 1–2, 76–84
Рудаченко Е.П. 3, 397–404
Рыжак Г.А. 1–2, 174–179; 6, 990–995

***С**авельева М.И.* 5, 781–786
Савич В.В. 5, 765–770
Самарцева В.Г. 1–2, 145–151
Самко К.В. 5, 758–764
Самохвалова М.В. 1–2, 137–144
Сапожников К.В. 3, 439–444
Сараев Г.Б. 3, 364–369
Сарвилина И.В. 6, 1003–1010
Сафарова Г.Л. 6, 1052–1062
Сафонова Ю.А. 6, 882–888
Светличкина А.А. 1–2, 207–210
Сегаль А.М. 5, 837–842
Селихова М.С. 5, 732–736
Селятицкая В.Г. 5, 737–742
Семенов А.Л. 3, 325–330
Серов В.А. 4, 633–638
Серова Д.В. 4, 633–638
Сиденкова А.П. 6, 1045–1051
Сидоров Р.В. 1–2, 93–101
Сизенко В.В. 4, 545–549
Симонова В.В. 6, 935–940
Симонян А.Г. 1–2, 185–188
Синицина И.И. 5, 781–786
Скобло М.Л. 1–2, 128–132
Слиняков Л.Ю. 1–2, 185–188
Смочилин А.Г. 1–2, 133–136
Соловьев А.Г. 3, 456–461; 4, 516–523
Соловьев М.А. 4, 545–549
Стельник Е.В. 1–2, 282–289
Степанченко А.П. 1–2, 198–202
Степчук М.А. 3, 451–455; 4, 658–663; 5, 853–859
Ступина Т.А. 5, 812–818
Султанова С.С. 1–2, 243–249
Суханова Г.И. 4, 550–557
Сычев Д.А. 5, 781–786; 6, 1011–1016

***Т**аборская К.И.* 1–2, 38–44
Теплый Д.Л. 6, 915–922
Ткаченко Е.В. 6, 996–1002
Тодосенко М.Н. 1–2, 85–92
Толченникова В.В. 5, 718–724
Торгашов М.Н. 4, 492–501
Торопова Я.Г. 1–2, 85–92
Тренева Е.В. 3, 405–414
Третьяков В.В. 5, 795–803
Трофимова С.В. 6, 908–914; 6, 1017–1022
Труханова И.Г. 3, 405–414
Тукиш О.В. 4, 565–571
Тумасова Ж.Н. 1–2, 38–44
Тучков А.А. 4, 592–598
Тындык М.Л. 1–2, 66–75; 3, 325–330
Тюренков И.Н. 1–2, 29–37

***У**рюпина А.А.* 5, 758–764
Усольцева Е.Н. 4, 516–523

***Ф**едорос Е.И.* 3, 325–330
Федорук Г.В. 1–2, 198–202
Фисенко В.П. 6, 1011–1016
Фокина Е.А. 6, 941–947
Фомин В.В. 1–2, 20–28
Фомина А.А. 6, 959–963

***Х**авинсон В.Х.* 1–2, 137–144; 1–2, 174–179; 5, 771–780; 6, 908–914
Халаман В.В. 6, 990–995
Харах Г. 3, 331–337
Харитонова Е.Е. 5, 829–836
Харченко В.В. 4, 530–535
Хижкин Е.А. 3, 347–356
Хмелевский А.А. 3, 462–468
Хризман Ю.Н. 3, 462–468
Худоерков Р.М. 1–2, 60–65
Хужахметова Л.К. 6, 915–922
Хусаинова Г.Х. 1–2, 29–37
Хяникяйнен И.В. 4, 558–564

***Ц**уцунава М.Р.* 3, 469–476
Цыган Н.В. 4, 545–549
Цырлин В.А. 1–2, 76–84; 6, 964–975

***Ч**алисова Н.И.* 6, 990–995
Чандирли С.А. 1–2, 250–255; 6, 1011–1016
Черепанова Е.В. 1–2, 133–136
Черняев А.В. 1–2, 185–188

***Ш**алыгин В.А.* 5, 781–786
Шапкина М.Ю. 3, 422–430
Шаркунов Н.П. 1–2, 211–214; 4, 664–667
Шемякова Т.С. 6, 935–940
Шепелев В.В. 1–2, 189–197
Шепилова И.А. 5, 829–836
Шептицкий В.А. 1–2, 262–272; 4, 536–544

Шилина Н. И. 5, 737–742
Шило А. В. 1–2, 55–59
Шлык И. Ф. 1–2, 93–101
Шпаков А. О. 1–2, 85–92; 3, 431–438; 6, 941–947
Шутов А. М. 4, 633–638

***Щ**ербук А. Ю.* 1–2, 133–136
Щербук Ю. А. 1–2, 133–136
Щудло М. М. 5, 812–818
Щудло Н. А. 5, 812–818
Щукин Ю. В. 5, 819–823
Щукина О. Б. 5, 837–842

***Ю**ркевич А.* 1–2, 273–281
Юрова М. Н. 1–2, 66–75; 6, 1034–1038
Юсупова В. Ч. 3, 370–374

***Я**влянская В. В.* 1–2, 102–107
Яковлев А. А. 3, 415–421
Яскевич Р. А. 4, 592–598

БЛАГОДАРНОСТЬ РЕЦЕНЗЕНТАМ

Редакционная коллегия журнала «Успехи геронтологии» выражает глубокую благодарность коллегам за их большой и бескорыстный труд по рецензированию статей, поступивших в редакцию в 2019 г. Ваша высокая квалификация, объективность, конструктивность, благожелательность и добрые рекомендации, несомненно, способствовали повышению качества публикуемых работ, укреплению репутации журнала.

С надеждой на продолжение сотрудничества в Новом году –

главный редактор
журнала «Успехи геронтологии»
член-корреспондент РАН *В. Н. Анисимов*

Опубликованные в 2019 г. статьи рецензировали:

Абашидзе Аслан Хусейнович (Москва)
Азин Александр Леонидович (Йошкар-Ола)
Анисимов Владимир Николаевич (Санкт-Петербург)
Аничков Николай Мильевич (Санкт-Петербург)
Артемьева Анна Сергеевна (Санкт-Петербург)
Арутюнян Александр Вартанович (Санкт-Петербург)
Арьев Александр Леонидович (Санкт-Петербург)
Бажанова Елена Давыдовна (Санкт-Петербург)
Байрамов Бахыш Халил-оглы (Санкт-Петербург)
Балдуева Ирина Александровна (Санкт-Петербург)
Баллюзек Марина Феликсовна (Санкт-Петербург)
Баранов Владислав Сергеевич (Санкт-Петербург)
Бахидзе Елена Вилльевна (Санкт-Петербург)
Берштейн Лев Михайлович (Санкт-Петербург)
Беспалов Владимир Григорьевич (Санкт-Петербург)
Богомолов Олег Алексеевич (Санкт-Петербург)
Бойко Евгений Рафаилович (Сыктывкар)
Борисенков Михаил Федорович (Сыктывкар)
Боровкова Наталья Юрьевна (Нижний Новгород)
Бубнова Наталья Алексеевна (Санкт-Петербург)
Василенко Ирина Анатольевна (Москва)
Виноградова Ирина Анатольевна (Петрозаводск)
Войтенков Владислав Борисович (Санкт-Петербург)
Гафтон Георгий Иванович (Санкт-Петербург)
Глущенко Владимир Анатольевич (Санкт-Петербург)
Голубев Алексей Георгиевич (Санкт-Петербург)
Голубева Елена Юрьевна (Архангельск)
Голубцова Наталья Николаевна (Чебоксары)
Гончарова Надежда Дмитриевна (Сочи)
Горшунова Нина Корниловна (Курск)
Григорьева Ирина Андреевна (Санкт-Петербург)
Гуляев Алексей Викторович (Санкт-Петербург)
Гунин Андрей Германович (Чебоксары)
Деев Анатолий Иванович (Москва)
Долгова Валентина Ивановна (Челябинск)
Дубров Вадим Эрикович (Москва)
Ермилов Виктор Владимирович (Волгоград)
Жаринов Геннадий Михайлович (Санкт-Петербург)
Жданов Дмитрий Александрович (Росток, Германия)
Жулина Наталия Ивановна (Нижний Новгород)
Загребин Валерий Леонидович (Волгоград)
Заславский Денис Владимирович (Санкт-Петербург)
Захарова Наталья Олеговна (Самара)
Зырянов Сергей Кенсаринович (Москва)
Иванов Сергей Викторович (Сыктывкар)
Иванов Сергей Дмитриевич (Санкт-Петербург)
Иванцов Александр Олегович (Санкт-Петербург)
Ильницкий Андрей Николаевич (Москва)
Имянитов Евгений Наумович (Санкт-Петербург)
Инарокова Алла Музрачевна (Нальчик)
Иорданишвили Андрей Константинович (Санкт-Петербург)
Кадагидзе Заира Григорьевна (Москва)
Кантемирова Раиса Кантемировна (Санкт-Петербург)
Караваева Татьяна Артуровна (Санкт-Петербург)
Карева Елена Николаевна (Москва)
Карпищенко Сергей Анатольевич (Санкт-Петербург)
Кветной Игорь Моисеевич (Санкт-Петербург)
Киреева Галина Сергеевна (Санкт-Петербург)
Козина Людмила Семеновна (Санкт-Петербург)
Козлов Андрей Петрович (Санкт-Петербург)
Козлов Кирилл Ленарович (Санкт-Петербург)
Колосова Наталия Гориславовна (Новосибирск)
Кольтовер Виталий Кимович (Черноголовка, Московская обл.)
Кореневский Андрей Валентинович (Санкт-Петербург)
Королькова Татьяна Николаевна (Санкт-Петербург)
Крылов Владимир Борисович (Санкт-Петербург)
Кузнецов Игорь Анатольевич (Астрахань)
Куликов Александр Владимирович (Пущино)
Лаптева Екатерина Сергеевна (Санкт-Петербург)
Левченко Евгений Владимирович (Санкт-Петербург)
Лысенко Алла Викторовна (Ростов-на-Дону)
Макрушин Андрей Валентинович (пос. Борок, Ярославская обл.)
Мащенко Елена Александровна (Москва)
Мерабишвили Вахтанг Михайлович (Санкт-Петербург)
Мещанинов Виктор Николаевич (Екатеринбург)
Михальский Анатолий Михайлович (Москва)
Михельсон Виктор Михайлович (Санкт-Петербург)
Москалев Алексей Александрович (Сыктывкар)
Мустафин Рустам Наилевич (Уфа)
Мякотных Виктор Степанович (Екатеринбург)
Один Виталий Иванович (Санкт-Петербург)
Оловников Алексей Матвеевич (Москва)

Ордян Наталья Эдуардовна (Санкт-Петербург)
Отеллин Владимир Александрович (Санкт-Петербург)
Павлов Константин Иванович (Санкт-Петербург)
Панченко Андрей Владимирович (Санкт-Петербург)
Парфенова Оксана Анатольевна (Санкт-Петербург)
Пастухов Юрий Федотович (Санкт-Петербург)
Пасюкова Елена Генриховна (Москва)
Первова Ирина Леонидовна (Санкт-Петербург)
Полевщиков Александр Витальевич (Санкт-Петербург)
Полякова Виктория Олеговна (Санкт-Петербург)
Попов Игорь Юрьевич (Санкт-Петербург)
Попович Ирина Григорьевна (Санкт-Петербург)
Поспелова Татьяна Викторовна (Санкт-Петербург)
Потапов Владимир Николаевич (Москва)
Прохоров Денис Георгиевич (Санкт-Петербург)
Прощаев Кирилл Иванович (Москва)
Пузин Сергей Никифорович (Москва)
Раджабова Замира Ахмедовна (Санкт-Петербург)
Романюха Алексей Алексевич (Москва)
Рыжак Галина Анатольевна (Санкт-Петербург)
Сажнев Максим Леонидович (Москва)
Сампиев Мухаммад Таблиханович (Москва)
Самсонов Владимир Владимирович (Москва)
Сафарова Гаянэ Левоновна (Санкт-Петербург)
Сафонова Юлия Александровна (Санкт-Петербург)
Серпов Владимир Юрьевич (Санкт-Петербург)
Сидоренко Александр Васильевич (Вена, Австрия)
Смирнов Алексей Владимирович (Волгоград)
Смирнова Ирина Олеговна (Санкт-Петербург)
Смолькин Антон Александрович (Москва)
Смольников Андрей Викторович (Санкт-Петербург)
Снигур Григорий Леонидович (Волгоград)
Солдатова Людмила Николаевна (Санкт-Петербург)
Соловьёв Андрей Горгоньевич (Архангельск)
Спивак Ирина Михайловна (Санкт-Петербург)
Струков Евгений Леонидович (Санкт-Петербург)
Татаринова Ольга Викторовна (Якутск)
Терёшина Елена Владимировна (Москва)
Ткаченко Елена Викторовна (Санкт-Петербург)
Трофимова Светлана Владиславовна (Санкт-Петербург)
Финагентов Анатолий Вячеславович (Санкт-Петербург)
Фролова Елена Владимировна (Санкт-Петербург)
Хорошинина Лидия Павловна (Санкт-Петербург)
Хохлов Александр Николаевич (Москва)
Хромов-Борисов Никита Николаевич (Санкт-Петербург)
Цырлина Евгения Владимировна (Санкт-Петербург)
Чалисова Наталья Иосифовна (Санкт-Петербург)
Чернышева Марина Павловна (Санкт-Петербург)
Чулкова Валентина Алексеевна (Санкт-Петербург)
Шатило Валерий Брониславович (Киев, Украина)
Шемеровский Константин Александрович (Санкт-Петербург)
Шпаков Александр Олегович (Санкт-Петербург)

В шести номерах журнала, вышедших в 2019 г., опубликовано 140 статей, авторами которых были 456 человек. Из общего числа 267 рукописей, поступивших в редакцию за период с ноября 2018 г. по ноябрь 2019 г., было принято в печать 170, отклонено – 58.

Публикационная активность журнала «Успехи геронтологии» по данным Российского индекса научного цитирования

Показатель	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Число статей в РИНЦ	99	105	111	114	115	115	123	122	135
Двухлетний импакт-фактор РИНЦ	0,371	0,844	0,544	0,454	0,840	0,738	0,574	0,681	0,718
Двухлетний импакт-фактор РИНЦ с учетом цитирования из всех источников	0,493	1,016	0,618	0,611	1,080	1,022	1,170	1,239	1,098
Пятилетний импакт-фактор РИНЦ	0,448	0,746	0,510	0,525	0,736	0,682	0,729	0,933	0,767
Общее число цитирований журнала в текущем году	250	503	401	458	626	596	696	828	776
Десятилетний индекс Хирша	22	22	22	21	23	23	23	20	23
Число просмотров статей за год	7241	4586	4218	7417	7344	6464	18 606	23 582	15 841
Число авторов	178	245	278	303	328	317	362	372	406
Число новых авторов	85	93	103	131	135	134	178	172	198

Источник – https://elibrary.ru (дата скачивания 25.12.2019 г.)

Журнал «Успехи геронтологии» занимает 140-е место из 7 629 журналов в рейтинге SCIENCE INDEX за 2018 г. по тематике «Медицина и здравоохранение».

PEPTIDES — эксклюзивный представитель Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии

Новая эра сотрудничества надежных партнеров
Новые перспективы развития
Новые препараты

МОСКОВСКИЕ ОФИСЫ
Москва, 1-я улица Ямского поля, д. 24
7 (495) 640-0614 (доб. 1)
1@peptidesco.ru

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ОФИС
СПб., ул. 2-я Советская, д. 4Б, офис 254
7 (812) 640-0614 (доб. 2)
2@peptidesco.ru

НИЖЕГОРОДСКИЙ ОФИС
Н. Новгород, Московское шоссе, д. 29А
7 (831) 260-1291
6@peptidesco.ru

ОФИЦИАЛЬНОЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В ЕВРОПЕ
Латвия, Рига, ул. Альберта, 2-9
+371 675-01-555
help@peptideproduct.eu

PEPTIDES
ПЕПТИДНАЯ КОМПАНИЯ № 1

www.peptidesco.com

Рег. № ОО3135/01 от 29.06.2016 РЕКЛАМА

Жизнь продолжается!

Цитофлавин®

ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ АКТИВАЦИИ МЕТАБОЛИЗМА НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ [1]

Способствует:

- усилению интенсивности аэробного гликолиза в нервных клетках;
- активации утилизации глюкозы и β-окисления жирных кислот в нервной ткани;
- стимулированию синтеза γ-аминомасляной кислоты в нейронах;
- увеличению устойчивости мембран нервных и глиальных клеток к ишемии;
- улучшению коронарного и мозгового кровотоков.

[1] Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения

Полисан