

*На правах рукописи*

**МАГАНОВА**  
**Фания Иршатовна**

**БИОГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОГРАММ  
ПОВЫШЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ  
В ВИТАЛЬНОМ ДОМЕНЕ**

**3.1.31. Геронтология и гериатрия**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Санкт-Петербург – 2024**

Работа выполнена в лаборатории фармакологии пептидов отдела биогеронтологии  
АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук  
Малютина Елена Станиславовна

**Официальные оппоненты:**

**Голованова Елена Дмитриевна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой общей врачебной практики, поликлинической терапии с курсом гериатрии ФДПО

**Голубцова Наталья Николаевна**, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», заведующий кафедрой общей и клинической морфологии и судебной медицины

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г. в \_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета 75.2.020.01 при в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» по адресу: 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» <http://www.gerontology.ru>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 75.2.020.01,  
доктор биологических наук,  
профессор

Козина Людмила Семеновна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

В настоящее время геронтологическая профилактика вышла за пределы пожилого и старческого возраста, так как т.н. наиболее эффективное окно профилактических возможностей гериатрических синдромов и возраст-ассоциированных заболеваний находится в зрелом возрасте [Matejovska H., 2020; Weber P., 2019]. При этом в качестве основных концептов для реализации профилактических гериатрических программ рассматриваются два: концепт преждевременного старения и концепт индивидуальной жизнеспособности (intrinsic capacity) [Прощаев К.И., 2017; Ильницкий А.Н., Белоусова О.Н., 2021; Кравченко Е.С., 2022].

Повышение жизнеспособности – это механизмы повышения устойчивости одновременно ко многим факторам риска и группам заболеваний, в этом основное отличие от классической профилактики заболеваний, при которой мероприятия направлены против развития одной или узкой группы заболеваний. Повысить жизнеспособность можно, активируя заложенные природой в человеке саногенетические механизмы. В настоящее время индивидуальная жизнеспособность рассматривается в рамках следующих доменов – локомоторного, сенсорного, когнитивного, психологического, витального (нутритивного) и эстетического [ВОЗ, 2019; Воронина Е.А., 2022].

В контексте профилактики преждевременного старения наибольший интерес представляет работа с витальным доменом. В природе существуют вещества, которые способны активировать эти саногенетические процессы. Эти вещества называются прорезилиентами. Однако современному человеку поступления этих веществ только с продуктами питания недостаточно, поэтому возникают ситуации, когда их надо принимать дополнительно в виде обогащенного питания, нутрицевтиков, биологически активных веществ, то есть необходима саплементация (дополнительное применение этих веществ к питанию) [Гашимова У.Ф., 2018; Петрище Т.Л., 2020].

Потребность в профилактической саплементации возникает по трем основным причинам. Первая – абсолютная недостаточность прорезилиентов в продуктах питания: либо человек использует неправильную систему питания, либо продукты после промышленной переработки или из-за состава почв не содержат нужное количество прорезилиентов. Вторая – человек имеет факторы риска, повышающие потребность в прорезилиентах, например: проживание в неблагоприятных с экологической точки зрения регионах, джетлаг, ночная работа, психоэмоциональный стресс. Третья – у человека в организме началась индукция процессов преждевременного старения начались процессы преждевременного старения, которые еще не вызывали болезни, но которые можно расценить как предболезни (например, избыточная масса тела, предгипертония, субклиническая депрессия и др.) или уже имеют место соматические заболевания, которые расцениваются как клиническое проявление процессов преждевременного старения (например, метаболический синдром в зрелом возрасте) [Ramos K.S., 2005; Khammad E.V., 2019; Москалев А.А., 2020].

### **Степень разработанности темы**

К прорезилиентам (клеточным хроноблокаторам) относятся вещества, которые способны активировать процессы саногенеза и замедлять процессы патологического старения на клеточном уровне. Соответственно, они обладают потенциальными геропротекторными свойствами. На сегодняшний день такие эффекты известны в отношении ряда микро- и макроэлементов, аминокислот и витаминов [Коршун Е.И., 2017; Куваева З.И., 2017]. Вместе с тем, есть и другие вещества, перспективные с этой точки зрения. К ним можно отнести природные терпеноиды- кислородосодержащие органические соединения (как правило, природного происхождения), углеродный скелет которых образован из изопреновых звеньев. Учитывая уже некоторые известные их свойства (антиоксидантная эффективность, снижение выраженности инфламэйджинга и др.), они являются перспективными с точки зрения возможности их применения в рамках повышения жизнеспособности в витальном домене, и, соответственно применения при реализации программ геронтологической профилактики различных вариантов преждевременного старения [Доскина Е.В. и соавт., 2018; Proshkina E. и соавт., 2020]. Вместе с тем, системных исследований в отношении терпеноидов как геропротекторных препаратов с позиций современных геронтологических концептов - профилактики преждевременного старения и повышения индивидуальной жизнеспособности - не проводилось.

### **Терминологические уточнения**

В настоящем исследовании мы рассматривали следующие варианты патологического старения: ускоренное старение в животных моделях, и его клинический аналог - преждевременное старение у людей.

### **Цель исследования**

Дать биogerонтологическое обоснование программам повышения жизнеспособности в витальном домене на основе применения нутриентов с геропротекторными свойствами (на примере терпеноидов).

### **Задачи исследования**

1. Оценить возможности применения терпеноидов как геропротекторов на основе метода компьютерной хемогеномики.
2. Изучить влияние терпеноидов на аутофагию и митофагию с позиций профилактики патологического старения.
3. Выявить механизмы клеточной защиты терпеноидами в условиях моделирования ускоренного старения у животных.
4. Оценить влияние терпеноидов на атеросклеротический континуум при метаболическом варианте преждевременного старения у людей.
5. Дать оценку влияния терпеноидов на процессы инфламэйджинга и оксидативного стресса при метаболическом варианте преждевременного старения у людей.
6. Проанализировать динамику биологического возраста при применении терпеноидов в программах повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене.

### Научная новизна работы

Впервые с системных позиций проведено биogerонтологическое исследование по применению природных нутриентов (на примере терпеноидов) для повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене на основе концепта управления патологическим старением. Впервые методом компьютерной хемогеномики *in silico* показано, что эффективными нутриентами для коррекции биологического возраста с целью повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене являются терпеноиды, так как большая часть из них имеет высокий уровень наличия геропротекторной активности Pa в пределах 0,590-0,912 ед. при прогнозировании спектра активности веществ, базирующемся на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships, GUSAR). При этом показано, что таковым из группы монотерпенов был лимонен (Pa 0,682), из группы сесквитерпенов -  $\beta$ -кариофиллен (Pa 0,701), из группы дитерпенов- дегидроабиетиновая кислота, карнозол и карнозиновая кислота (Pa 0,590, 0,692 и 0,803 соответственно), из группы тритерпенов - урсоловая, олеаноловая, маслиновая, 18 $\alpha$ -глицирретиновая кислоты и гинзенозиды (Pa 0,815, 0,703, 0,639, 0,641 и 0,818 соответственно), из группы тетратерпенов/каротиноидов -  $\beta$ -каротин, ликопин, фукоксантин, астаксантин, лютеин и зеаксантин (Pa 0,834, 0,855, 0,860, 0,912, 0,797 и 0,683 соответственно).

Впервые доказано, что геропротекторное действие терпеноидов на клеточном уровне обеспечивается путем активации процессов аутофагии в физиологических пределах без влияния на уровень митофагии и без изменения количества копий митохондриальной ДНК, что выражается в достоверном увеличении количества белковых комплексов LC3-II в клетках MRC5-SV40 более чем в 10 раз.

Показано, что терпеноиды замедляют процессы патологического старения путем инактивации цитолиза и обеспечения функциональности клеток, что подтверждается более высоким (более чем в 5 раз) значением коэффициента де Ритиса у животных в модели патологического (ускоренного) старения при защите терпеноидами в отличие от особей, где такая защита не проводилась (0,54 ед. и 0,10 ед. соответственно) и сохранением уровня гамма-глутамилтрансферазы в крови.

Доказано, что у людей при метаболическом варианте преждевременного старения терпеноиды оказывают геропротекторное действие путем замедления атеросклеротического континуума, снижения выраженности эндотелиальной дисфункции, что подтверждается достоверным повышением уровня содержания в крови липопротеидов высокой плотности, снижением уровня гликированного гемоглобина, снижением уровня гомоцистеина.

Изучено влияние терпеноидов на такие ключевые механизмы патологического старения как инфламейджинг и окислительный стресс. Выявлено, что терпеноиды способны инактивировать процессы инфламейджинга за счет достоверного снижения содержания в крови провоспалительных интерлейкинов, а также способствуют нормализации баланса систем перекисного окисления липидов и антиокислительных систем, что проявляется в достоверном снижении коэффициента окислительного стресса с 1,33 до 1,02 усл.ед.

### **Практическая значимость**

Дано биogerонтологическое обоснование программам повышения жизнеспособности в витальном домене на основе применения нутриентов с геропротекторными свойствами на примере терпеноидов.

Получены патенты «Фармацевтическая композиция, изготовленная путем экстракции компонентов хвойных деревьев, обогащенная фракцией монотерпеноидов» (Израиль, № 208092, 14.03.2008), «Полиактивная терпеноидная субстанция Абисил-2, фармацевтическая композиция на ее основе и способы применения» (Россия, № RU2338547, 20.11.2008), «Способ стимуляции митофагии и аутофагии в клетках, способ стимуляции аутофагии или митофагии для лечения состояния, ассоциированного с митохондриальной дисфункцией» (Россия, № 2765414 С1, 31.01.2022), которые легли в основу разработки геропротекторных нутрицевтиков.

С практической точки зрения важным является то, что трехмесячная саплементации геропротекторными нутриентами при метаболическом варианте преждевременного старения позволяет повысить индивидуальную жизнеспособность за счет устранения отрицательного дисбаланса между биологическим и хронологическим возрастом у людей с синдромом преждевременного старения.

### **Методология и методы проведенного исследования**

Методологией исследования явились концепты профилактики преждевременного старения и индивидуальной жизнеспособности.

В ходе исследования применялись биохимические, иммуногистохимические, функциональные методы, методы компьютерного моделирования и прогнозирования, математико-статистические методы.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Эффективными нутриентами для коррекции биологического возраста с целью повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене являются терпеноиды, так как большая часть из них имеет высокий уровень наличия геропротекторной активности  $R_a$  в пределах 0,590-0,912 ед. при прогнозировании спектра активности веществ, базирующемся на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships, GUSAR).

2. Геропротекторное действие терпеноидов на клеточном уровне обеспечивается путем активации процессов аутофагии в физиологических пределах без влияния на уровень митофагии и без изменения количества копий митохондриальной ДНК.

3. Терпеноиды замедляют процессы патологического старения путем инактивации цитолиза, замедления атеросклеротического континуума, снижения выраженности эндотелиальной дисфункции, снижения выраженности инфламейджинга и нормализации баланса систем перекисного окисления липидов и антиокислительных систем.

4. Трехмесячная саплементация геропротекторными нутриентами при метаболическом варианте преждевременного старения позволяет повысить индивидуальную жизнеспособность за счет снижения биологического возраста на 2,61 года (при определении по методике А.Ю. Фединцева), на 2,81 года (при

определении по методике Е.В. Аносовой, на 4,66 года (при определении по методике Л.Н. Белозеровой).

### **Степень достоверности и апробация результатов диссертации**

Результаты исследований, включенных в диссертацию, доложены и обсуждены на следующих научных съездах, конференциях, симпозиумах, совещаниях: на международной конференции «Способы достижения активного долголетия» (Казань, 2018); на 2-х и 3-х геронтологических интернет-чтениях (Москва, 2020, 2021), на международной конференции «Современные достижения медицины здорового долголетия» (Владивосток, 2022), на Национальном конгрессе «Медицина здорового долголетия и качества жизни» (Репино, 2023).

Основные результаты исследования внедрены в деятельность Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, Научно-исследовательского медицинского центра «Геронтология», ООО «Инитиум-фарм», Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно были определены цель и задачи проведенного исследования, проработана отечественная и зарубежная литература по проблемам индивидуальной жизнеспособности и преждевременного старения. Автором были произведены сбор биogerонтологических данных, обработка и обобщение собранных материалов, подготовка основных публикаций, написание и оформление рукописей диссертации и автореферата. Личный вклад автора составляет 85%.

### **Связь с научно-исследовательской работой института**

Диссертационная работа выполнена по основному плану научно-исследовательской работы АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

### **Соответствие диссертации заявленной специальности**

Диссертация «Биogerонтологическое обоснование программ повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене» соответствует паспорту специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия, и направлениям исследования: 1. Демографические, социологические, социально-гигиенические вопросы возраста, старости и старения. Разработка принципов и организация медицинской, медико-социальной и социальной помощи людям пожилого и старческого возраста. Статистическая отчетность и обработка статистических данных; 2. Изучение процессов формирования биологического и хронологического возраста, старения и старости. Основные механизмы физиологического, преждевременного, патологического старения. Основные концепты в геронтологии и гериатрии и их операционализация: старческая астения, индивидуальная и возрастная жизнеспособность, преждевременное старение, функциональная способность. Разработка методов определения биологического возраста; 4. Разработка принципов профилактической геронтологии и гериатрии, методов и средств профилактики преждевременного старения. Обоснование принципов, разработка методов и средств увеличения продолжительности жизни и продления активного периода жизни. Изучение принципов физиологии и гигиены питания в пожилом и старческом

возрасте и путей метаболизма нутриентов в норме и при различных патологических процессах. Разработка принципов физической активности, обеспечения психологической и когнитивной функциональности. Методы и средства традиционной и комплементарной медицины в повышении возрастной жизнеспособности.

### Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ в журналах, включая 8 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации и Scopus для опубликования основных результатов диссертационных исследований, 3 тезиса докладов и 3 патента.

### Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из оглавления, списка условных обозначений, введения, общей характеристики работы, материалов и методов, основной части, состоящей из трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающий 187 источников (в т.ч. 149 на иностранных языках). Работа представлена на 146 страницах, содержит 10 таблиц, 11 рисунков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование проводилось в несколько этапов (Таблица 1).

Таблица 1

Этапы исследования по биогеронтологическому обоснованию программ повышения жизнеспособности в витальном домене на основе применения нутриентов с геропротекторными свойствами

Этап	Наименование этапа	Цели этапа	Методы
1	Прогнозирование геропротекторных свойств нутриентов	Определить природные вещества (на примере терпеноидов), которые обладают геропротекторными свойствами с обеспечением безопасности и функциональности	in silico (компьютерная хемогеномика)
2	Выявление клеточных механизмов геропротекторных свойств терпеноидов	Оценить влияние терпеноидов на ауто- и митофагию	in vitro (вестерн-блоттинг)
		Изучить защитные свойства терпеноидов в отношении сохранности клеточной функциональности	in vivo на животных (этанол-индуцированная модель ускоренного старения)
3	Анализ возможностей применения терпеноидов в программах повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене	Изучить влияние терпеноидов на процессы атеросклеротического континуума, эндотелиальную дисфункцию, оксидативный статус и инфламейджинг	in vivo на человеке (люди с метаболическим вариантом преждевременного старения)
		Оценить влияние терпеноидов на биологический возраст	



На **первом этапе** было проведено прогнозирование геропротекторных свойств нутриентов. Определяли природные вещества из семейства терпеноидов, которые обладают геропротекторными свойствами с обеспечением безопасности и функциональности *in silico* методом компьютерной хемогеномики. Исследование проводилось с помощью скрининга в сервисе прогнозирования спектра активности веществ (Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)), который базируется на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (GeneralUnrestrictedStructure-ActivityRelationships (GUSAR). Средняя точность прогноза составляла около 95 % (Leave-one-outcross-validation).

На **втором этапе** мы изучали клеточные механизмы геропротекторных свойств терпеноидов.

Вначале *in vitro* мы оценили влияние терпеноидов на ауто- и митофагию. В качестве терпеноид-содержащего препарата использовался экстракт терпенов пихты сибирской «Абисил» (регистрационный № PN003339/02), предоставленный компанией «Инитиум-Фарм» (Москва, Россия). Уровень аутофагии оценивали по количеству белка LC3-II в клетках MRC5-SV40 с помощью вестерн-блоттинга. Для обнаружения использовали вестерн-хемиллюминесцентный субстрат HRP Immobilon (Merck-Millipore, Sigma Aldrich); сигнал хемиллюминесценции определяли с использованием системы визуализации Bio Rad ChemiDoc MP (Bio-Rad). Количественную оценку белковых полос проводили с использованием программного обеспечения ImageJ (NIH, Bethesda, MD, США). Использовали следующие первичные антитела: бета-актин (D6A8, #8457, Cell Signaling Technology), LC3 (D11, #3868, Cell Signaling Technology). Для проведения точной количественной оценки эффективности аутофагии выполняли 3D реконструкцию набора полей с применением серии срезов по оси Z (так называемый z-stack) на конфокальном микроскопе. Конфокальную микроскопию проводили на системе конфокальной визуализации Nikon A1 + MP с использованием масляного ДИК-объектива Apo TIRF 60x /1,49 (числовая апертура = 1,49; Nikon Япония), водно-иммерсионного объектива Apo LWD 40x /1,15 S (числовая апертура = 1,15; Nikon Япония). Изображения сканировали последовательно с использованием диодных лазеров с длиной волны 488 и 561 нм в сочетании с дихроичным светоделителем DM405/488/561/633 нм. Для визуализации контуров клеток использовали микроскопию с дифференциальной интерференционной контрастной (ДИК) визуализацией. Изображения анализировали с помощью программного обеспечения NIS-elements AR (Nikon, Япония). Для оценки митофагии клетки MRC5-SV40 обрабатывали Абисилом и смотрели, локализуется ли красный флуоресцентный краситель Mitotracker Red с зеленым флуоресцентным красителем Lysotracker Green.

Для изучения защитных свойств терпеноидов в отношении сохранности клеточной функциональности мы использовали этанол-индуцированную модель ускоренного старения на животных. Данная модель была выбрана по двум причинам: 1) митохондриальная дисфункция гепатоцитов является одним из центральных механизмов патологического старения у живых организмов, в т.ч. и у людей [Прощаев К.И. и соавт., 2019; M. Murphy et al., 2017], 2) повреждение гепатоцитов является одним из центральных патологических механизмов развития метаболического синдрома у людей - клинического аналога метаболического варианта преждевременного старения [Позднякова Н.М., 2012], который изучался в настоящем исследовании. Данная часть исследования была проведена на 48 самцах

крыс Wistar средней массой  $323,5 \pm 6,5$  г в возрасте 2,5–3,0 мес. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденными ГОСТ № 33215–2014 по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник. Ускоренное старение модулировали формированием этанол-индуцированной патологии печени по методике моделирования алкогольного поражения печени у животных Петрова А.Н. и соавт. (2015). Животные были разделены на 3 группы по 16 особей. Первой группе (контрольной) вводили воду (потребляли самостоятельно из поилки перорально), второй - 40% этанол в дозе 7 мл/кг (специальным зондом перорально), третьей - этанол и терпеноидсодержащая биологически активная добавка к пище «КардиоОрганик®» (СГР RU.77.99.11.003.R.002404.08.20), предоставленная компанией «Королев Фарм» в дозе 25 мг/кг на протяжении 4 недель (смесь этанола и терпеноид-содержащей добавки, приготовленная непосредственно перед введением, вводилась специальным зондом перорально). Оценивали биохимические показатели крови (АлАТ, АсАТ, соотношение АсАТ/АлАТ (коэффициент де Ритиса), билирубин общий, билирубин прямой, билирубин непрямой, общий белок, альбумин, глобулины,  $\gamma$ -глутамил-трансфераза (ГГТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), щелочная фосфатаза). Исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе АРД-200 с использованием специальных наборов реагентов.

На третьем этапе проводили анализ возможностей применения терпеноидов в программах повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене. Исследование проводили *in vivo* у людей с метаболическим вариантом преждевременного старения. Исследование было проспективным, рандомизированным, сравнительным, плацебо-контролируемым, двойным слепым. Исследование проводилось в соответствии с требованиями Национального стандарта Российской Федерации “Надлежащая клиническая практика” ГОСТ Р 53279-2005, Хельсинкской декларации этических принципов медицинских исследований «Вовлечение людей и надлежащая клиническая практика ICH E6». Диагностику состояний, назначение обследования и интерпретацию медицинских данных осуществляли лечащие врачи. В исследовании приняли участие 60 человек (30 мужчин и 30 женщин) в возрасте 40-65 лет (средний возраст  $47,2 \pm 5,6$  лет), у которых имел место метаболический вариант преждевременного старения (по классификации Прошаева К.И. и соавт., 2019). Критериями исключения было наличие любого из следующих заболеваний или состояний: сахарный диабет 1 и 2 типов; индекс массы тела (ИМТ)  $\leq 25$  или  $\geq 35$  кг/м<sup>2</sup>; артериальная гипертензия второй или третьей степени повышения артериального давления; острый коронарный синдром; острое нарушение мозгового кровообращения или транзиторная ишемическая атака; вмешательства по реваскуляризации коронарных или брахиоцефальных артерий в анамнезе; фибрилляция предсердий; стенокардия; хроническая сердечная недостаточность; СКФ  $\leq 59$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>; повышенная активность АСТ или АЛТ в сыворотке крови более чем в 2,5 раза по сравнению с верхней границей нормы; хронический гепатит или цирроз печени любой этиологии; онкологическое заболевание любой локализации в настоящее время или в анамнезе; текущая или ранее проводившаяся регулярная медикаментозная терапия, включая все пищевые добавки; одновременное участие в другом клиническом исследовании; наличие в анамнезе алкогольной и/или наркотической зависимости.

После обследования пациенты были случайным образом разделены на две равные группы по 30 человек: контрольную и основную. Участники исследования из основной группы получали разрешенную для применения у людей биологически активную добавку к пище «КардиоОрганик®» (СГР RU.77.99.11.003.R.002404.08.20, в состав одной капсулы входит 20 мг терпенов сибирской пихты, 1,7 мг терпена лимонена, 250 мг омега-3-ПНЖ, 6,5 мг витамина Е) по 1 капсуле 3 раза в день за 20 мин до еды в течение 90 дней. Участники в контрольной группе по аналогичной схеме получали плацебо, которое представляло собой капсулу той же формы, цвета и размера, что и исследуемый продукт, по аналогичной схеме (1 капсула плацебо содержало 592,5 мг льняного масла и 7,5 мг витамина Е). Изначально и через три месяца определяли содержание в крови глюкозы, гликированного гемоглобина, холестерина и его фракций, фактора Виллебранда, гомоцистеина, интерлейкинов 1, 2, 6, 10, фактора некроза опухоли альфа, показателей панели оксидативного статуса. Трёхмесячный период наблюдения был избран как ожидаемый период наступления биохимических эффектов саплементации [Global database on the Implementation of Nutrition Action (GINA), 2017]. При этом использовали сертифицированное на территории Российской Федерации оборудование, имевшееся в распоряжении баз исследования. Также определяли биологический возраст по методикам А.Ю. Фединцева и соавт. (2017), Е.В. Аносовой (2012), Л.Н. Белозеровой (2006). Выбор данной модели методик обусловлен отсутствием универсальной методики определения биологического возраста и необходимости сравнения вклада метаболических, сосудистого и гемопоэтических процессов в устранении дисбаланса биологического и хронологического возраста.

Подробное описание всех методов и методик приведено в тексте диссертации.

Математико-статистическая обработка данных проводилась с использованием программы STATISTICA v.12. Для оценки статистической значимости полученных различий использовались непараметрические критерии: Манна-Уитни для независимых и Уилкоксона для зависимых выборок. Статистическую значимость различий показателей определяли по методу Фишера-Стьюдента. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Прогнозирование геропротекторных эффектов терпенов и терпеноидов**

Прогнозирование активности терпенов и терпеноидов с помощью системы PASS позволили сопоставить геропротекторную активность изученных веществ.

Для этого мы разработали систему критериев [Маганова Ф. и соавт., 2020] потенциальных требований к нутрицевтическим геропротекторам. К основным критериям мы отнесли следующие: 1) продление жизни в экспериментах с моделями на животных; 2) улучшение молекулярных, клеточных и физиологических биомаркеров старения; 3) низкая токсичность; 4) минимальные побочные эффекты в терапевтической дозировке при длительном применении; 5) повышение функциональности. Дополнительными критериями были: 6) сохранение эволюционных механизмов адаптации; 7) воспроизводимость геропротекторных эффектов на различных живых моделях; 8) протекция в отношении возраст-

ассоциированных заболеваний у людей; 9) повышение жизнеспособности в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды (Таблица 2).

Таблица 2

Геропротекторный потенциал терпеноидов		Критерии*									Pa
Терпены и терпеноиды		Основные					Дополнительные				
Группа	Вещество	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Монотерпены	Лимонен	+	+	-	-	+	+	+	+	+	0,682
Сесквитерпены	$\beta$ -кариофиллен	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0,701
Дитерпены	Дегидроабие- тиновая кислота	+	+	+	+	+	+	0	+	0	0,590
	Карнозол	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0,692
	Карнозиновая кислота	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0,803
Тритерпены	Сквален	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0,412
	Урсоловая кислота	+	+	+	-	+	+	+	+	+	0,815
	Олеаноловая кислота	+	0	+	-	+	+	0	+	+	0,703
	Маслиновая кислота	0	+	+	+	+	+	0	+	0	0,639
	18 $\alpha$ -глицир- ретиновая кислота	+	0	-	-	+	+	0	+	0	0,641
	Азиатикозид	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0,472
	Гинзенозиды	+	+	+	-	+	+	0	+	+	0,818
Тетратерпены/ каротиноиды	$\beta$ -каротин	-	+	+	-	+	+	-	+	-	0,834
	Ликопин	+	+	+	+	+	+	-	+	0	0,855
	Фукоксантин	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0,860
	Астаксантин	+	+	+	-	+	+	+	+	+	0,912
	Лютеин	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0,797
	Зеаксантин	-	+	+	+	+	+	0	+	0	0,683
	$\beta$ -криптоксантин	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0,488

\*Критерии: 1) продление жизни в экспериментах с моделями на животных; 2) улучшение молекулярных, клеточных и физиологических биомаркеров старения; 3) низкая токсичность; 4) минимальные побочные эффекты в терапевтической дозировке при длительном применении; 5) повышение функциональности; 6) хранение эволюционных механизмов адаптации; 7) воспроизводимость геропротекторных эффектов на различных живых моделях; 8) протекция в отношении возраст-ассоциированных заболеваний у людей; 9) повышение жизнеспособности в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды.

Обозначения: «+» - соответствие критериям; «-» - несоответствие критериям; «0» - не исследовано.

Мы показали, что у большинства представителей семейства терпеноидов есть представители с выраженными геропротекторными свойствами. Наибольшее соответствие первичным и вторичным критериям геропротекторов мы обнаружили для следующих веществ. Из группы монотерпенов таковым был лимонен, значения Pa для него составили 0,682. Из группы сесквитерпенов следует отметить  $\beta$ -кариофиллен, значения Pa для него составили 0,701. Из группы дитерпенов следует отметить дегидроабиетиновую кислоту, карнозол и карнозиновую кислоту; значения Pa для них составили соответственно 0,590, 0,692 и 0,803. Из группы тритерпеноидов

потенциальную геропротекторную активность имели урсоловая кислота ( $P_a=0,815$ ), олеаноловая кислота ( $P_a=0,703$ ), маслиновая кислота ( $P_a=0,639$ ),  $18\alpha$ -глицирретиновая кислота ( $P_a=0,641$ ), гинзенозиды ( $P_a=0,818$ ). Среди тетратерпенов/каротиноидов следует выделить  $\beta$ -каротин ( $P_a=0,834$ ), ликопин ( $P_a=0,855$ ), фукоксантин ( $P_a=0,860$ ), астаксантин ( $P_a=0,912$ ), лютеин ( $P_a=0,797$ ) и зеаксантин ( $P_a=0,683$ ) (Таблица 2).

В связи с наличием высокой потенциальной геропротекторной активности терпеноидов дальше мы решили изучить механизмы геропротекторного действия этих веществ.

### Клеточные механизмы геропротекторного действия терпеноидов

Известно, что аутофагия необходима для поддержания жизнедеятельности организма, она является естественным, регулируемым механизмом жизнедеятельности клетки, который обеспечивает устранение дисфункциональных компонентов. Вместе с тем, при преждевременном старении происходит снижение уровня аутофагии. Мы изучили влияние терпеноидов на уровень аутофагии. Уровень аутофагии оценивали по количеству белка LC3-II в клетках MRC5-SV40 с помощью вестерн-блоттинга по отношению к бета-актину. При обработке Абисилом в концентрации 50 мкг/мл наблюдалось значительное увеличение содержания комплексов LC3-II (Рисунок 1) что свидетельствовало об эффективной стимуляции аутофагии.

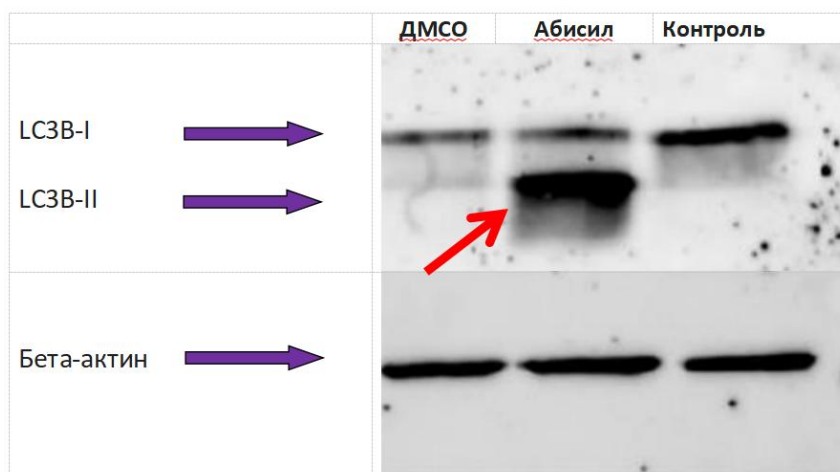
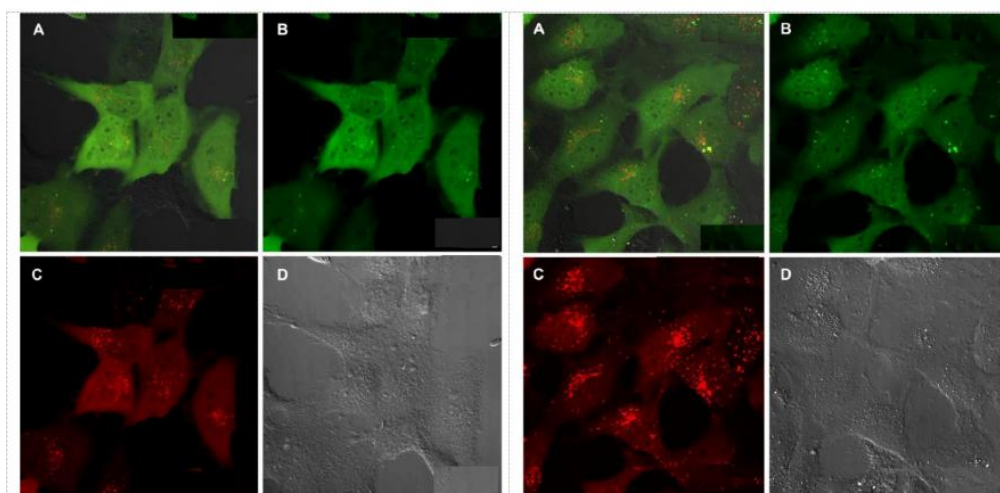


Рисунок 1. Влияние предварительной обработки Абисилом на накопление LC3II в клетках MRC5-SV40 при вестер-блоттинге

На Рисунке 2 видна интенсификация аутофагии через 24 часа при обработке Абисилом в сравнении с диметилсульфоксидом (ДМСО). Количественно это выразилось в достоверно ( $p<0,05$ ) более высоком количестве комплексов LC3-II в клетках MRC5-SV40 в поле зрения при обработке Абисилом ( $4,62\pm 0,53$ ) по сравнению как с контролем ( $0,43\pm 0,02$ ) так и по сравнению с результатами оценки при обработке ДМСО ( $0,73\pm 0,21$ ).

В итоге количество комплексов LC3-II превышало в 10,74 раза количество подобных комплексов в контрольных образцах.



при обработке ДМСО

при обработке Абисилом

- (A) слияние красного, зеленого каналов флуоресценции и светлого поля  
 (B) зеленый канал флуоресценции  
 (C) красный канал флуоресценции  
 (D) светлое поле

Рисунок 2. Оценка аутофагии через 24 час. в клетках MRC5-SV40, несущих репортерные гены GFP-LC3-mCherry (10 мкм)

Повышение уровня аутофагии, вызванное обработкой Абисилом, могло означать, что Абисил индуцирует и митофагию. Для проверки этой гипотезы клетки MRC5-SV40 обрабатывали Абисилом и смотрели, колокализуется ли красный флуоресцентный краситель Mitotracker Red с зеленым флуоресцентным красителем LysoTracker Green. Наблюдалось увеличение количества фаголизосом, но они не колокализовались с Mitotracker Red, что указывало на то, что Абисил способствовал аутофагии, но не индуцировал митофагию. Это подтверждалось анализом значений отношения числа копий мтДНК/ядНК в клетках (Таблица 3). Достоверных отличий между контрольными образцами, образцами, обработанными ДМСО и Абисилом выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3

Относительное число копий митохондрий, определенных по отношению мтДНК/ядНК, в клетках MRC5-SV40

Показатель	Образцы		
	Контроль	ДМСО	Абисил
Отношение мтДНК/ядНК	1,01±0,05	1,02±0,07	1,06±0,11
Отношение мтДНК/ядНК, нормализованное по ДМСО	0,97±0,07	1,00±0,08	1,02±0,06

Таким образом, терпеноиды активировали процессы аутофагии без влияния на уровень митофагии и не меняя количество копий мтДНК.

### Геропротекторные свойства терпеноидов в модели ускоренного старения на животных

В ходе исследования было установлено, что в группе особей, у которого имело место этанолиндуцированное ускоренное старение, произошли изменения следующих биохимических показателей крови. Среди маркеров цитолиза уровень АлАТ оставался без изменения, уровень АсАТ достоверно ( $p < 0,05$ ) снизился в 8,9 раза. Коэффициент де Ритиса при этом достоверно ( $p < 0,05$ ) снизился в 12 раз, уровень ЛДГ достоверно ( $p < 0,05$ ) повысился в 4,8 раза (Таблица 4).

Таблица 4

Показатели маркеров цитолиза сыворотки крови в модели ускоренного старения

Показатели	Группы животных					
	Контрольная (интактные)		Модель ускоренного старения		Модель ускоренного старения + терпеноиды	
	Исходные значения	Через 1 мес.	Исходные значения	Через 1 мес.	Исходные значения	Через 1 мес.
АлАТ, Ед/л	63,12 ±6,22	65,15 ±6,16	64,56 ±6,40	65,40 ±9,64	66,92 ±5,88	57,14 ±1,44
АсАТ, Ед/л	68,50 ±12,24	70,92 ±14,86	69,21 ±8,15	8,00 ±3,42 <sup>*,**</sup>	70,18 ±9,93	30,86 ±4,66 <sup>*,**,#</sup>
Коэффициент де Ритиса, ед	1,24 ±0,18	1,20 ±0,19	1,23 ±0,15	0,10 ±0,08 <sup>*,**</sup>	1,21 ±0,12	0,54 ±0,09 <sup>*,**,#</sup>
ЛДГ, Ед/л	628,52 ±136,31	623,8 ±124,22	620,28 ±114,67	2990,4 ±407,2 <sup>*,**</sup>	610,29 ±102,25	1413,9 ±663,6

\*  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе;

#  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в модели ускоренного старения

Отметим, что снижение активности АсАТ могло быть связано с уменьшением количества функционирующих гепатоцитов и нарушением образования этого фермента в печени. В группе применения терпеноидов на фоне применения этанола также достоверно ( $p < 0,05$ ) снизились уровни АсАТ и коэффициента де Ритиса, однако степень этих изменений была достоверно менее выражена, чем у особей в модели ускоренного старения с защитой терпеноидами. Так, если в группе с применением этанола показатель АсАТ снизился до  $8,00 \pm 3,42$  Ед/л, то в группе с применением терпеноидов на фоне применения этанола только до  $30,86 \pm 4,66$  Ед/л (несмотря на то, что показателя был достоверно ниже, чем в контрольной группе, в которой он составил  $70,92 \pm 14,86$  Ед/л,  $p < 0,05$ , тем не менее, он был достоверно выше показателя в группе применения этанола,  $p < 0,05$ ). Показатель де Ритиса в контрольной группе достоверно не поменялся с исходным и составил  $1,20 \pm 0,19$  усл.ед, в группе с применением этанола коэффициент де Ритиса снизился до  $0,10 \pm 0,08$  усл.ед ( $p < 0,05$  по сравнению со значениями показателя в контрольной группе), а в группе с применением терпеноидов на фоне применения этанола только до  $0,54 \pm 0,09$  усл.ед ( $p < 0,05$  по сравнению со значениями показателя в контрольной группе и в группе применения этанола). Кроме того, в отличие от группы с применением этанола, где повышение уровня ЛДГ было достоверным, в группе с применением терпеноидов на фоне применения этанола повышение было

недостовверным. Эти данные свидетельствовали о геропротекторном защитном эффекте в отношении такого механизма ускоренного старения как цитолиз.

Таблица 5

Показатели маркеров билирубинового обмена, холестаза и нарушения желчевыводящей функции в модели ускоренного старения

Показатели	Группы животных					
	Контрольная (интактные)		Модель ускоренного старения		Модель ускоренного старения + терпеноиды	
	Исходные значения	Через 1 мес.	Исходные значения	Через 1 мес.	Исходные значения	Через 1 мес.
Билирубин общий, мкмоль/л	2,33 ±0,21	2,35 ±0,24	2,57 ±5,15	2,50 ±0,09	2,36 ±0,21	2,42 ±0,09
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,62 ±0,08	0,60 ±0,13	0,61 ±0,11	0,11 ±0,05 <sup>*,**</sup>	0,62 ±0,11	1,09 ±0,69 <sup>*,**,#</sup>
Билирубин не прямой, мкмоль/л	1,77 ±0,20	1,75 ±0,21	1,68 ±0,18	2,40 ±0,10 <sup>*,**</sup>	1,69 ±0,17	1,33 ±0,66 <sup>*,**,#</sup>
ГГТ, Ед/л	3,55 ±1,21	3,54 ±1,35	3,28 ±1,06	0,80 ±0,28 <sup>*,**</sup>	3,53 ±1,08	4,86 ±0,63 <sup>#</sup>
Щелочная фосфатаза, Ед/л	204,82 ±11,50	205,62 ±21,75	211,02 ±18,91	335,80 ±28,31 <sup>*,**</sup>	203,17 ±13,54	197,29 ±8,15 <sup>#</sup>

\*  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе;

#  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в модели ускоренного старения

Уровень билирубина в результате введения этанола не изменился, однако соотношение фракций прямого (конъюгированного) и токсичного непрямого (неконъюгированного) билирубина существенно изменилось: после воздействия этанола большая доля стала приходиться на не прямой билирубин (Таблица 5). Это являлось показателем нарушения функции гепатоцитов, связанного с инактивацией (конъюгированием) непрямого билирубина. Уровень активности ГГТ в результате воздействия этанолом снизился достоверно ( $p < 0,05$ ) в 4,4 раза. Это свидетельствовало о снижении функциональной активности гепатоцитов или об уменьшении количества функционирующих клеток печени. Также было отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение активности щелочной фосфатазы, что свидетельствовало о формировании холестаза. При защите терпеноидами данных патологический явлений не наблюдалось, что свидетельствовало о наличии терпеноидов геропротекторных свойств, обеспечивающих функциональную активность клеток в условиях воздействия факторов риска ускоренного старения.

#### **Изучение биологического возраста при метаболическом варианте преждевременного старения у людей на фоне саплементации терпеноидами**

Мы изучили геропротекторное влияние терпеноидов на показатели, которые отражают механизмы формирования биологического возраста, у людей с метаболическим вариантом преждевременного старения.



При изучении маркеров метаболического статуса были выявлены следующие закономерности. Оказалось, что на фоне применения терпеноидов в течение трех месяцев достоверно снизился уровень гликированного гемоглобина в крови с  $5,56 \pm 0,13\%$  до  $5,22 \pm 0,04\%$  ( $p < 0,05$ ). Применение терпеноидов не оказало влияния на содержание проатерогенных фракций холестерина, вместе с тем, на фоне приема терпеноидов достоверно возросло содержание ЛПВП с  $1,60 \pm 0,09$  ммоль/л до  $1,92 \pm 0,07$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Эти данные свидетельствовали о геропротекторном влиянии терпеноидов на такое ключевое звено преждевременного старения как атеросклеротический континуум (Таблица 6).

Таблица 6

Динамика биохимических показателей (содержание в крови) и биофункциональных маркеров метаболического статуса

Показатель	Группы людей с синдромом преждевременного старения			
	Контрольная		Основная	
	Исходные показатели	Через 3 мес.	Исходные показатели	Через 3 мес.
Глюкоза, ммоль/л	$5,22 \pm 0,17$	$5,28 \pm 0,14$	$5,36 \pm 0,11$	$5,30 \pm 0,13$
Гликированный гемоглобин, %	$5,50 \pm 0,08$	$5,56 \pm 0,13$	$5,50 \pm 0,06$	$5,22 \pm 0,04^{***}$
Инсулин, мкЕд/мл	$8,29 \pm 1,26$	$8,38 \pm 0,94$	$9,21 \pm 0,83$	$8,84 \pm 0,62$
Триглицериды, ммоль/л	$1,02 \pm 0,09$	$1,11 \pm 0,05$	$1,14 \pm 0,08$	$0,98 \pm 0,16$
ЛПВП, ммоль/л	$1,58 \pm 0,21$	$1,61 \pm 0,06$	$1,60 \pm 0,09$	$1,92 \pm 0,07^{**}$
ЛПНП, ммоль/л	$3,66 \pm 0,17$	$3,66 \pm 0,17$	$3,71 \pm 0,17$	$3,66 \pm 0,17$

\* $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\* $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе.

С процессами атеросклеротического континуума сопряжен другой патофизиологический механизм преждевременного старения – эндотелиальная дисфункция. Мы изучили такие маркеры эндотелиальной дисфункции как фактор Виллибранда и содержание гомоцистеина в крови. Если достоверных изменений в отношении фактора Виллибранда нами обнаружено не было, то в отношении гомоцистеина были выявлены достоверные изменения. На фоне приема терпеноидов произошло достоверное снижение содержания гомоцистеина в крови с  $9,31 \pm 0,21$  ммоль/л до  $7,99 \pm 0,12$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало об улучшении эндотелиальной функции (Таблица 7).

Таблица 7

Динамика показателей эндотелиальной дисфункции (содержание в крови)

Показатель	Группы людей с синдромом преждевременного старения			
	Контрольная		Основная	
	Исходные показатели	Через 3 мес.	Исходные показатели	Через 3 мес.
Фактор Виллибранда, %	$140,31 \pm 12,44$	$132,16 \pm 14,60$	$115,02 \pm 18,24$	$112,81 \pm 19,08$
Гомоцистеин, ммоль/л	$9,15 \pm 0,36$	$9,31 \pm 0,21$	$9,70 \pm 0,31$	$7,99 \pm 0,12^{**}$

\* $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\* $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе.

Процессы атеросклеротического континуума и эндотелиальной дисфункции тесно сопряжены с еще одним важным патофизиологическим процессом, активирующимся при преждевременном старении – инфламейджингом. В ходе исследования мы отметили снижение выраженности инфламейджинга на фоне применения терпеноидов, что проявилось в достоверном снижении содержания в крови провоспалительных интерлейкинов: содержание IL-2 уменьшилось в 1,19 раза с  $87,32 \pm 2,55$  пг/мл до  $69,98 \pm 2,30$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), содержание IL-6 уменьшилось в 3,74 раза с  $1,51 \pm 0,76$  пг/мл до  $0,40 \pm 0,02$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) (Таблица 8).

Таблица 8

## Динамика показателей инфламейджинга (содержание в крови)

Показатель	Группы людей с синдромом преждевременного старения			
	Контрольная		Основная	
	Исходные показатели	Через 3 мес.	Исходные показатели	Через 3 мес.
IL-1, пг/мл	$284,12 \pm 10,20$	$284,39 \pm 10,54$	$293,20 \pm 11,25$	$285,24 \pm 9,63$
IL-2, пг/мл	$86,63 \pm 2,44$	$83,58 \pm 2,47$	$87,32 \pm 2,55$	$69,98 \pm 2,30^{* **}$
IL-6, пг/мл	$1,48 \pm 0,45$	$1,52 \pm 0,26$	$1,51 \pm 0,76$	$0,40 \pm 0,02^{* **}$
TNF- $\alpha$ , пг/мл	$119,27 \pm 12,21$	$115,34 \pm 13,39$	$122,11 \pm 15,13$	$116,33 \pm 9,85$

\* $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\* $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе.

Кроме того, как показало изучение показателей еще одного механизма - преждевременного старения – применение терпеноидов в значительной степени способствовало нормализации баланса систем перекисного окисления липидов и антиокислительных систем, что выразилось в достоверном снижении коэффициента окислительного стресса с  $1,33 \pm 0,05$  усл.ед. до  $1,02 \pm 0,04$  усл.ед. ( $p < 0,05$ ) (Таблица 9).

Таблица 9

## Динамика показателей оксидативного статуса (содержание в крови)

Показатель	Группы людей с синдромом преждевременного старения			
	Контрольная		Основная	
	Исходные показатели	Через 3 мес.	Исходные показатели	Через 3 мес.
ИДС, усл.ед. опт.пл./100 г	$2,63 \pm 0,24$	$2,37 \pm 0,61$	$2,55 \pm 0,24$	$2,32 \pm 0,39$
ДК, усл.ед. опт.пл./100 г	$2,13 \pm 0,15$	$2,20 \pm 0,17$	$2,14 \pm 0,18$	$1,60 \pm 0,19^{* **}$
ТБК-РП, ммоль/г	$92,44 \pm 2,07$	$94,58 \pm 2,37$	$93,81 \pm 3,00$	$82,16 \pm 1,84$
КАТ, ммоль/мин/г белка	$56,12 \pm 4,41$	$58,23 \pm 3,92$	$55,24 \pm 4,31$	$61,22 \pm 3,19$
ГП, мкмоль/мин/г белка	$21,04 \pm 1,30$	$22,10 \pm 1,45$	$20,93 \pm 2,04$	$28,61 \pm 2,58^{* **}$
Г-SH, мкмоль/г	$12,81 \pm 1,25$	$11,60 \pm 1,72$	$11,82 \pm 1,62$	$18,20 \pm 2,05^{* **}$
К, усл.ед.	$1,31 \pm 0,07$	$1,34 \pm 0,06$	$1,33 \pm 0,05$	$1,02 \pm 0,04^{* **}$

\* $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\* $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе.

В итоге главным биологическим эффектом геропротекторных свойств терпеноидов стало достоверное снижение биологического возраста: произошло

достоверное снижение биологического возраста, определенного по методике А.Ю. Фединцева и соавт. (2017) на  $2,61 \pm 0,22$  года с  $57,61 \pm 0,13$  лет до  $55,00 \pm 0,31$  лет ( $p < 0,05$ ) (Таблица 10).

Таблица 10

## Динамика биологического возраста (лет)

Показатель	Группы людей с синдромом преждевременного старения			
	Контрольная		Основная	
	Исходные показатели	Через 3 мес.	Исходные показатели	Через 3 мес.
БВ по А.Ю. Фединцеву и соавт. (2017)	$57,72 \pm 0,15$	$57,61 \pm 0,13$	$57,61 \pm 0,13$	$55,00 \pm 0,31^{*,**}$
БВ по Е.В. Аносовой (2012)	$59,34 \pm 0,28$	$59,03 \pm 0,34$	$58,92 \pm 0,21$	$56,11 \pm 0,42^{*,**}$
БВ по Л.Н. Белозеровой (2006)	$60,31 \pm 1,19$	$59,82 \pm 0,94$	$60,04 \pm 1,20$	$55,38 \pm 1,43^{*,**}$

\* $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

\*\* $p < 0,05$  по сравнению с показателями в контрольной группе.

Эти данные соотносились с динамикой биологического возраста, определенной по методикам Е.В. Аносовой (2012) и Л.Н. Белозеровой (2006). Методика Е.В. Аносовой (2012) продемонстрировала снижение биологического возраста на  $2,81 \pm 0,25$  года с  $58,92 \pm 0,21$  года до  $56,11 \pm 0,42$  лет ( $p < 0,05$ ), методика Л.Н. Белозеровой (2006) продемонстрировала снижение биологического возраста на  $4,66 \pm 1,24$  года с  $60,04 \pm 1,20$  года до  $55,38 \pm 1,43$  лет ( $p < 0,05$ ) (Таблица 10).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование было посвящено биogerонтологическому обоснованию программ повышения жизнеспособности в витальном домене на основе применения нутриентов с геропротекторными свойствами. В качестве примеров нутриентов были избраны терпеноиды как перспективные геропротекторы. Исследование показало, что терпеноиды могут применяться при модификации программ повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене, поскольку все представители этого класса находятся вне зоны критериев показателя отсутствия геропротекторной активности  $P_i < 0,03$ , а большая часть из них имеет высокий уровень наличия геропротекторной активности  $P_a$  в пределах  $0,590-0,912$  при прогнозировании спектра активности веществ, базирующемся на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships, GUSAR). При этом среди монотерпенов таковым был лимонен, значения  $P_a$  для него составили  $0,682$ . Из группы сесквитерпенов следует отметить  $\beta$ -кариофиллен, значения  $P_a$  для него составили  $0,701$ . Из группы дитерпенов следует отметить дегидроабетиновую кислоту, карнозол и карнозиновую кислоту; значения  $P_a$  для них составили соответственно  $0,590$ ,  $0,692$  и  $0,803$ . Из группы тритерпеноидов потенциальную геропротекторную активность имели урсоловая кислота ( $P_a = 0,815$ ), олеаноловая кислота ( $P_a = 0,703$ ), маслиновая кислота ( $P_a = 0,639$ ),  $18\alpha$ -глицирретиновая кислота ( $P_a = 0,641$ ), гинзенозиды ( $P_a = 0,818$ ). Среди тетратерпенов/каротиноидов следует выделить  $\beta$ -

каротин ( $P_a=0,834$ ), ликопин ( $P_a=0,855$ ), фукоксантин ( $P_a=0,860$ ), астаксантин ( $P_a=0,912$ ), лютеин ( $P_a=0,797$ ) и зеаксантин ( $P_a=0,683$ ).

Известно, что при патологическом старении ослабевает механизм естественной аутофагии. Терпеноиды активируют процессы аутофагии без влияния на уровень митофагии и не меняя количество копий мтДНК. Количественно это выразилось в достоверно ( $p<0,05$ ) более высоком количестве комплексов LC3-II в клетках MRC5-SV40 в поле зрения при обработке Абисилом ( $4,62\pm 0,53$ ) по сравнению с контролем ( $0,43\pm 0,02$ ). В итоге количество комплексов LC3-II превышало в 10,74 раза количество подобных комплексов в контрольных образцах.

Цитолиз - еще один важный механизм патологического старения. При моделировании ускоренного старения в этанол-индуцированной модели в группе животных коэффициент де Ритиса снизился до  $0,10\pm 0,08$ , а в группе с применением терпеноидов на фоне применения этанола только до  $0,54\pm 0,09$  Ед/л ( $p<0,05$ ). Кроме того, в отличие от группы с применением этанола, где повышение уровня ЛДГ было достоверным, в группе с применением терпеноидов на фоне применения этанола повышение было недостоверным. Эти данные свидетельствовали о геропротекторном защитном эффекте в отношении такого механизма ускоренного старения как цитолиз. Уровень активности ГГТ в результате воздействия этанолом снизился достоверно ( $p<0,05$ ) в 4,4 раза. Это свидетельствовало о снижении функциональной активности гепатоцитов или об уменьшении количества функционирующих клеток печени. Также было отмечено достоверное ( $p<0,05$ ) повышение активности щелочной фосфатазы, что свидетельствовало о формировании холестаза. При защите терпеноидами данных патологический явлений не наблюдалось, что свидетельствовало о наличии у терпеноидов геропротекторных свойств, обеспечивающих функциональную активность клеток в условиях воздействия факторов риска ускоренного старения.

Полученные данные позволили предположить наличие геропротекторных эффектов терпеноидов у людей с преждевременным старением. Мы исследовали эти эффекты при метаболическом варианте преждевременного старения. Оказалось, что на фоне применения терпеноидов в течение трех месяцев достоверно снизился уровень гликированного гемоглобина в крови с  $5,56\pm 0,13\%$  до  $5,22\pm 0,04\%$  ( $p<0,05$ ). Применение терпеноидов не оказало влияния на содержание проатерогенных фракций холестерина, вместе с тем, на фоне приема терпеноидов достоверно возросло содержание ЛПВП с  $1,60\pm 0,09$  ммоль/л до  $1,92\pm 0,07$  ммоль/л ( $p<0,05$ ). Эти данные свидетельствовали о геропротекторном влиянии терпеноидов на такое ключевое звено преждевременного старения как атеросклеротический континуум.

С процессами атеросклеротического континуума сопряжен другой патофизиологический механизм преждевременного старения - эндотелиальная дисфункция. Мы изучили такие маркеры эндотелиальной дисфункции как фактор Виллебранда и содержание гомоцистеина в крови. Если достоверных изменений в отношении фактора Виллебранда нами обнаружено не было, то в отношении гомоцистеина были выявлены достоверные изменения. На фоне приема терпеноидов произошло достоверное снижение содержания гомоцистеина в крови с  $9,31\pm 0,21$  ммоль/л до  $7,99\pm 0,12$  ммоль/л ( $p<0,05$ ), что свидетельствовало об улучшении эндотелиальной функции.

В ходе исследования мы отметили снижение выраженности еще одного важного патологического процесса - инфламейджинга - на фоне применения

терпеноидов, что проявилось в достоверном снижении содержания в крови провоспалительных интерлейкинов: содержание IL-2 уменьшилось в 1,19 раза с  $87,32 \pm 2,47$  пг/мл до  $69,98 \pm 2,30$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), содержание IL-6 уменьшилось в 3,74 раза с  $1,51 \pm 0,76$  пг/мл до  $0,40 \pm 0,02$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Кроме того, как показало изучение показателей еще одного механизма - преждевременного старения - применение терпеноидов в значительной степени способствовало нормализации баланса систем перекисного окисления липидов и антиокислительных систем, что выразилось в достоверном снижении коэффициента окислительного стресса с  $1,33 \pm 0,05$  усл.ед. до  $1,02 \pm 0,04$  усл.ед. ( $p < 0,05$ ).

В итоге главным биологическим эффектом геропротекторных свойств терпеноидов стало достоверное снижение биологического возраста: произошло достоверное снижение биологического возраста, определенного по методике А.Ю. Фединцева и соавт. (2017) на  $2,61 \pm 0,22$  года с  $57,61 \pm 0,13$  лет до  $55,00 \pm 0,31$  лет ( $p < 0,05$ ), по методике Е.В. Аносовой (2012) на  $2,81 \pm 0,25$  года с  $58,92 \pm 0,21$  года до  $56,11 \pm 0,42$  лет ( $p < 0,05$ ), по методике Л.Н. Белозеровой (2006) на  $4,66 \pm 1,24$  года с  $60,04 \pm 1,20$  года до  $55,38 \pm 1,43$  лет ( $p < 0,05$ ).

## ВЫВОДЫ

1. Терпеноиды могут применяться при модификации программ повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене, поскольку все представители этого класса находятся вне зоны критериев показателя отсутствия геропротекторной активности  $P_i < 0,03$ , а большая часть из них имеет высокий уровень наличия геропротекторной активности  $P_a$  в пределах 0,590-0,912 при прогнозировании спектра активности веществ, базирующемся на алгоритме общей неограниченной взаимосвязи между структурой и активностью (General Unrestricted Structure-Activity Relationships, GUSAR).

2. Геропротекторное действие терпеноидов на клеточном уровне обеспечивается путем активации процессов аутофагии в физиологических пределах без влияния на уровень митофагии и не меняя количество копий митохондриальной ДНК, что выражается в достоверно ( $p < 0,05$ ) более высоком количестве белковых комплексов LC3-II в клетках MRC5-SV40 в поле зрения при обработке по сравнению с контрольными образцами ( $4,62 \pm 0,53$  и  $0,43 \pm 0,02$  комплексов в поле зрения соответственно, или в 10,74 раза больше).

3. Терпеноиды замедляют процессы патологического старения путем инактивации цитолиза и обеспечения функциональности клеток, что подтверждается более высоким значением коэффициента де Ритиса у особей в этанол-индуцированной модели ускоренного старения при защите терпеноидами в отличие от особей, где такая защита не проводилась ( $0,54 \pm 0,09$  ед. и  $0,10 \pm 0,08$  ед. соответственно,  $p < 0,05$ ) и сохранением уровня гамма-глутамилтрансферазы в крови.

4. Терпеноиды оказывают геропротекторное действия путем замедления атеросклеротического континуума и снижения выраженности эндотелиальной дисфункции, что подтверждается достоверным ( $p < 0,05$ ) при трехмесячной саплементации терпеноидами повышением уровня содержания в крови липопротеидов высокой плотности с  $1,60 \pm 0,09$  ммоль/л до  $1,92 \pm 0,07$  ммоль/л, снижением уровня гликированного гемоглобина с  $5,56 \pm 0,13\%$  до  $5,22 \pm 0,04\%$ , снижением уровня гомоцистеина с  $9,31 \pm 0,21$  ммоль/л до  $7,99 \pm 0,12$  ммоль/л.

5. При трехмесячной сапплементации терпеноидами отмечается снижение выраженности инфламейджинга и нормализации баланса систем перекисного окисления липидов и антиокислительных систем, что проявляется в достоверном ( $p < 0,05$ ) снижении содержания в крови провоспалительных интерлейкинов 2 и 6 соответственно в 1,19 и 3,74 раза и в достоверном снижении коэффициента окислительного стресса с  $1,33 \pm 0,05$  усл.ед. до  $1,02 \pm 0,04$  усл.ед. ( $p < 0,05$ ).

6. Повышение индивидуальной жизнеспособности в витальном домене путем сапплементации нутриентами с геропротекторной активностью происходит за счет устранения дисбаланса в биологическом и хронологическом возрасте путем достоверного снижения биологического возраста на  $2,61 \pm 0,22$  года (при определении по методике А.Ю. Фединцева), на  $2,81 \pm 0,25$  года (при определении по методике Е.В. Аносовой, на  $4,66 \pm 1,24$  года (при определении по методике Л.Н. Белозеровой).

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В программы повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене для людей с метаболическим вариантом преждевременного старения целесообразно включать терпеноидсодержащие препараты.

2. Снижение уровня гомоцистеина может служить маркерами снижения выраженности эндотелиальной дисфункции при преждевременном старении.

3. В ходе реализации программ повышения индивидуальной жизнеспособности в витальном домене для людей с синдромом преждевременного старения целесообразно осуществлять оценку биологического возраста в динамике по одной из методик (А.Ю. Фединцева с соавт., 2017; Е.И. Аносовой, 2012 или Л.Н. Белозеровой, 2006) как одного из критериев эффективности.

### СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

#### *Статьи в журналах из Перечня ВАК и Scopus*

1. Доскина, Е.В. Роль природных терпеноидов в ранней профилактике атеросклероза и метаболического синдрома (обзор литературы) / Е.В. Доскина, **Ф.И. Маганова**, Е.М. Зотова // Дневник Казанской медицинской школы. - 2019.- № 4. - С.137-141.

2. Изучение гепатопротективной активности терпенсодержащего препарата на модели алкогольного повреждения печени / А.Б. Выштакалюк, А.А. Парфенов, **Ф.И. Маганова**, Л.А. Лацерус // Русский медицинский журнал. - 2021. - Т. 29, № 4. - С. 4-9.

3. Маганова, Ф.И. Природные терпены пихты сибирской, как потенциальные геропротекторы / **Ф.И. Маганова**, Л.А. Лацерус, О.А. Бибова // Успехи геронтологии. - 2022. - Т. 35, № 4. - С. 612-613.

4. Effects of *Abies sibirica* terpenes on cancer- and aging-associated pathways in human cells / A. Kudryavtseva, G. Krasnov, A. Lipatova, B. Alekseev, **F. Maganova**, M. Shaposhnikov, M. Fedorova, A. Snezhkina, A. Moskalev // Oncotarget. - 2016. - Vol. 7, N. 5. - P. 83744-83754

5. Effects of Siberian fir terpenes extract Abisil on antioxidant activity, autophagy, transcriptome and proteome of human fibroblasts / A. Lipatova, G. Krasnov, P. Vorobyov, P. Melnikov, O Alekseeva, Y. Vershinina, A. Brzhozovskiy, D. Goliusova, **F.**

**Maganova, N Zakirova, A. Kudryavtseva, A. Moskalev** // Aging (Albany NY). - Vol. 13, N 16, - 2021. - P. 20050-20080.

6. A prospective randomized comparative placebocontrolled double-blind study in two groups to assess the effect of the use of biologically active additives with Siberian fir terpenes for the biological age of a person / **F. Maganova.**, M. Voevoda, V. Popov, A. Moskalev. // Front. Pharmacol. 2023. - 14:1150504.

7. Terpenoids as Potential Geroprotectors (review) / E. Proshkina, C. Plyusnin., T. Babak; E Lashmanova., **F. Maganova**, L. Koval, E. Platonova, M. Shaposhnikov, A. Moskalev // Antioxidants. - 2020. - Т. 9, N 529. - P. 1-50.

8. Современная нутритивная гепатопротекция и физическое функционирование организма/ Е.И. Рыжкова, И.П. Почитаева, Е.В. Крохмалева, Е.С. Малютина, Ф.И. Маганова, С.А. Сергиенко, М.С. Евдокимов // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. – 2024. – № 2.

#### Тезисы докладов

9. Маганова, Ф.И. Терпеноиды – перспективные геропротекторы / **Ф.И. Маганова** // Матер международной конф. «Способы достижения активного долголетия». - Казань, 2018. - С. 33.

10. Маганова, Ф. И. Управление биологическим возрастом как элемент профилактических программ / **Ф. И. Маганова**, Е.С. Малютина // Матер. 3-х геронтологических интернет-чтений. - М., 2021. - С, 47.

11. Маганова, Ф.И. Терпеноиды как биологические протекторы возраста / **Ф.И. Маганова** // Матер. международной конф. «Современные достижения медицины здорового долголетия». - Владивосток, 2022. - С. 41.

#### Патенты

12. Лацерус Л.А., Пинигина Н.М., **Маганова Ф.И.** Полиактивная терпеноидная субстанция Абисил-2, фармацевтическая композиция на ее основе и способы применения» (Россия, № RU2338547, 20.11.2008).

13. **Маганова Ф.И.**, Липатова А.В. Способ стимуляции митофагии и аутофагии в клетках, способ стимуляции аутофагии или митофагии для лечения состояния, ассоциированного с митохондриальной дисфункцией (Россия, № 2765414 С1, 31.01.2022),

14. Baryshnikov A., Pinigina I., **Maganova F.** Pharmaceutical composition prepared from extract of conifer subjected to stress and enriched with a fraction of monoterpenoid (Israel), № 208092, 14.03.2008),

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

<b>ACE2</b>	– ангиотензинпревращающий фермент II
<b>COVID-19</b>	– инфекция, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2
<b>EVA</b>	– ускоренное сосудистое старение
<b>SARS-CoV-2</b>	– severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, новый коронавирус, вызвавший пандемию COVID-19
<b>BAZ</b>	– возраст-ассоциированное заболевание
<b>ВОЗ</b>	– Всемирная организация здравоохранения
<b>ПКС</b>	– постковидный синдром

*Автор выражает благодарность за консультации по вопросам организации и проведения лабораторных исследований чл.-корр. РАН, д.м.н., профессору Москалёву Алексею Александровичу*

**МАГАНОВА Фания Иршатовна** БИОГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОГРАММ ПОВЫШЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ В ВИТАЛЬНОМ ДОМЕНЕ // Автореф. дис. канд. биол. наук: 3.1.31. Геронтология и гериатрия. СПб. – 2024. – 24 с.

---

Подписано в печать «    »                    2024 г. Формат 60\*84 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ \_\_\_\_ .

---

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии Издательства СПбГЭТУ «ЛЭТИ»

Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ» 197376, С.-Петербург, ул. проф. Попова, 5.