

Научное медицинское  
общество офтальмологов  
и гериатров

Том 18, № 4, 2009 г.

Научно-практический журнал  
Основан в декабре 1990 г.

# ПРОБЛЕМЫ СТАРЕНИЯ И ДОЛГО ЛЕТИЯ

Выходит 4 раза в год

Киев

## СОДЕРЖАНИЕ

### Биология старения

- Писарук А. В.* Онтогенетические часы: возможный молекулярно-генетический механизм ..... 355
- Дужак Г. В., Коркушко О. В.* Возрастные особенности изменений реологических свойств крови при введении адреналина ..... 373
- Рушкевич Ю. Е., Дубилей Т. А.* Повреждение эмоциогенных зон гипоталамуса и продолжительность жизни крыс ..... 381

### Гериатрия

- Коркушко О. В., Шатило В. Б., Чижова В. В., Ищук В. А.* Роль инсулинорезистентности в развитии дислипидемии у людей пожилого возраста ..... 393
- Пішель І. М., Євтушенко О. О., Леонов Ю. І., Григор'єва Н. В., Орлик Т. В., Шитіков Д. В., Ахаладзе М. Г., Варус В. І., Поворознюк В. В., Бутенко Г. М.* Залежність мінеральної щільності кісткової тканини від  $Xba$ -поліморфізму гена рецептора естрогена  $ER1\alpha$  у жінок літнього віку ..... 403
- Поворознюк В. В., Нішкумай О. І.* Зв'язок мінеральної щільності кісткової тканини та стану ліпідного обміну у жінок залежно від тривалості пост менопаузи ... 412
- Рихліцька К. В., Коломосць М. Ю.* Зміни мікробного пейзажу мокротиння у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень на фоні дисбіозу кишечника за умов атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій ..... 425
- Болтіна І. В.* Вплив шкідливих чинників та хронічної патології на цитогенетичні показники лімфоцитів периферичної крові у людей різного віку ..... 433

## **Социальная геронтология и герогигиена**

*Прокопенко Н. А.* Влияние изменений функционального состояния организма при старении на когнитивные процессы ..... 442

## **Некролог**

Александр Яковлевич Литошенко ..... 449

**Новые книги** ..... 451

**Содержание 18 тома, 2009 г.** ..... 452

**Авторский указатель** ..... 455

Электронная версия журнала размещена на сайте [www.geront.kiev.ua/psid](http://www.geront.kiev.ua/psid)

Зав. редакцией *В. В. Панюков*

---

04114, Киев-114, ул. Вышгородская, 67,  
Институт геронтологии АМН Украины  
Тел.: (044) 431 0568, факс: (044) 432 9956  
E-mail: [ig@geront.kiev.ua](mailto:ig@geront.kiev.ua)

---

Сдано в набор 10.12.2009. Подп. в печ. 22.12.2009. Формат 70 x 100/16.  
Офсетная печать. Печ. л. 7,4. Уч.-изд. 7,7. Зак. 33/4  
ООО "Велес", 03680 Киев, ул. Э. Потье, 14

© Государственное учреждение "Институт геронтологии  
им. акад. Д. Ф. Чеботарева АМН Украины"

# БИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ

“Пробл. старения и долголетия”, 2009, **18**, № 4. — С. 355–372

УДК 577.248

## ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЧАСЫ: ВОЗМОЖНЫЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ

**А. В. Писарук**

Государственное учреждение “Институт геронтологии  
им. акад. Д. Ф. Чеботарева АМН Украины”, 04114 Киев

Предложена гипотеза механизма, позволяющего клетке отсчитывать время жизни и по заданной программе изменять экспрессию хромосомных генов с целью управления онтогенезом (“онтогенетические часы”). Этот механизм представляет собой автономный молекулярно-генетический осциллятор, напоминающий количество циклов собственных колебаний путем отрезания концевой  $\tau$ -сегмента хроно-ДНК с помощью специальной рестриктазы, сборка которой происходит на этом сегменте из двух субъединиц (белков) в каждом цикле работы осциллятора. Эти белки поочередно синтезируются на рибосомах, так как каждый из них ингибирует синтез другого, что обеспечивает поочередное связывание субъединиц рестриктазы на концевом сегменте хроно-ДНК и однократное ее обрезание в одном цикле. Кроме того, каждый из этих белков является репрессором собственного гена и активатором гена другого белка, что обеспечивает экономичность и надежность работы осциллятора. Устройство осциллятора онтогенетических часов подобно циркадианному осциллятору, но его частота не синхронизирована с физическими ритмами природы и зависит от температуры тела. Поэтому измеряется не физическое, а биологическое время. Хроно-ДНК состоит из коротких повторяющихся

© А. В. Писарук (avpisaruk@ukr.net), 2009.

355

последовательностей нуклеотидов ( $\tau$ -сегментов) и вставленных через заданное число этих сегментов темпоральных (регуляторных) генов. Укорочение хроно-ДНК приводит к “обнажению” очередного темпорального гена и его разрушению экзонуклеазой. В результате прекращается синтез активатора (репрессора) и изменяется экспрессия ряда хромосомных генов, что инициирует очередную стадию онтогенеза.

**Ключевые слова:** биологические часы, онтогенез, старение.

Стимулом для нашей работы стала гипотеза А. М. Оловникова (2003) о “контроле биологического времени в индивидуальном развитии”, основная идея которой состоит в том, что в клетках (как в делящихся, так и в постмитотических) существуют молекулярно-генетические часы, отсчитывающие время жизни и управляющие развитием организма [13, 14]. Механизм отсчета времени состоит в укорочении специализированной ДНК (хрономеры) в каждом цикле биологического ритма ( $T$ -ритма). Гормональный сигнал  $T$ -ритма запускает механизм укорочения хрономеры, в которой содержатся гены, контролирующие экспрессию хромосомных генов. Поэтому при утрате хрономерных генов в процессе укорочения хрономеры изменяется экспрессия хромосомных генов, что обуславливает развитие и старение организма. Роль  $T$ -ритма может играть циркадианный ритм (для короткоживущих организмов) и инфрадианный (лунный) ритм — для долгоживущих организмов (с целью экономии длины хрономеры). В своей гипотезе автор представил детальное описание устройства и работы молекулярно-генетического механизма отсчета времени жизни организма.

Зачем организму нужны “часы жизни” и какой биологический ритм больше всего для этого подходит? Развитие и старение живых организмов — это процессы, развертывающиеся во времени. Для измерения времени были изобретены часы. В основе любых часов лежат периодические процессы в природе. В качестве первых часов люди использовали суточный ритм смены дня и ночи. С помощью этих часов они отсчитывали количество прожитых дней, что было необходимо для координации действий людей во времени, эффективной организации трудовой деятельности. Данной цели служат часы в широком смысле слова. Календарь тоже является своего рода часами, отсчитывающими дни и годы (“вечный” календарь).

Число прожитых лет определяет так называемый хронологический возраст человека и стадию его онтогенеза (детство, зрелость, старость). Возникает закономерный вопрос — существуют ли в живых системах “биологические часы” для временной организации процессов жизнедеятельности и управления онтогенезом?

Известно, что все процессы в живых организмах протекают циклически с разными периодами. Такие периодические процессы в живых системах названы биологическими ритмами [3, 11]. Наиболее важным из них является суточный ритм. Это самый универсальный и самый стабильный из всех известных биологических ритмов. Его универсальность состоит в том, что, во-первых, этот ритм имеют практически все живые организмы — от одноклеточных до человека (только у бактерий, продолжительность жизни которых меньше суток, нет этого ритма). Во-вторых, практически все процессы в организме изменяются с периодом 24 ч. Стабильность суточного ритма означает постоянство его периода и устойчивость к различным возмущающим воздействиям, что обеспечивается постоянной синхронизацией циркадианного ритма с суточным геофизическим ритмом. Основным синхронизирующим сигналом является свет. Смена дня и ночи, происходящая с постоянным периодом, обеспечивает постоянство периода циркадианного ритма. Известно, что и в условиях изоляции от суточного ритма внешней среды циркадианнные ритмы в живых организмах сохраняются. Доказано, что они являются эндогенными. Поэтому в науке возникло представление о биологических часах как автономном механизме отсчета времени в живых системах, открытом для синхронизирующих влияний внешней среды. Этот механизм есть в каждой клетке. В настоящее время он детально изучен.

В простейшем случае циркадианнные часы представляют собой молекулярно-генетическую систему регуляции синтеза одного белка с отрицательной обратной связью, осуществляемой этим же белком (являющимся репрессором собственного гена) [18]. При транскрипции “часового” гена образуется мРНК “часового” белка, который синтезируется в цитоплазме, а затем ингибирует транскрипцию “часового” гена. После распада мРНК и “часового” белка процесс повторяется (рис. 1). Вследствие временной задержки синтеза белка система работает как осциллятор с периодом колебаний 24 ч. На организменном уровне у животных и человека существуют специализированные структуры (супрахиазматические ядра гипоталамуса и эпифиз) для синхронизации всех внутриклеточных биологических часов с природным суточным циклом [1–3].

Каково назначение циркадианнных биологических часов? Считается, что суточный биологический ритм является средством адаптации живых организмов к периодическим изменениям физических факторов окружающей среды, связанным с вращением Земли. Эта адаптация состоит в том, что циклически (с периодом 24 ч) изменяется поведение, физиологические и биохимические процессы в организме, обеспечивая лучшую приспособленность живых организмов к среде и, в конечном счете, — их выживание. Эту функцию биологических часов можно назвать внешней. А есть ли у них внутренние функции, связанные, например, с управлением физиологическими процессами? Иначе, зачем биологическим часам автономность?

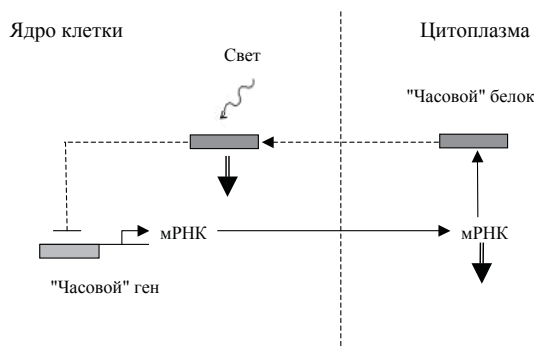


Рис. 1. Схема простейших циркадианных часов: сплошная линия — прямая связь, пунктирная линия — отрицательная обратная связь (торможение транскрипции “часового” гена его белком), волнистая линия — влияние медиаторов света, стрелки с двойными линиями — распад мРНК и “часового” белка.

Развитие живых организмов представляет собой строго упорядоченную во времени последовательность различных процессов. Не говоря уже об эмбриогенезе, постнатальный период жизни организма состоит из ряда стадий. Например, половое созревание и менопауза у всех животных данного вида наступают через определенное время после рождения. Вариабельность этих периодов небольшая. Что обеспечивает эту упорядоченность процессов? Можно предположить, что в живых организмах для организации различных процессов во времени (в том числе для управления развитием) служат биологические часы. Для выполнения этой задачи больше всего подходят циркадианные биологические часы в силу их универсальности, эндогенности и стабильности. Однако для того, чтобы управлять развитием организма, которое длится у большинства видов не один день, необходимо, чтобы биологические часы запоминали число циклов отсчитываемого ими времени.

Как можно представить себе такой механизм? Во-первых, он должен быть на молекулярном уровне организации жизни, так как биологические часы есть у одноклеточных организмов и в каждой клетке многоклеточного организма. Во-вторых, для запоминания времени подходят только стабильные макромолекулы, которыми в клетках являются молекулы ДНК. Для выполнения этой роли больше всего подходят циркадианные часы. Тем более что автономные молекулярные часы с другим периодом хода в клетках не найдены. Лунные ритмы, скорее всего, имеют экзогенный характер и поэтому не подходят на роль “часов жизни”. Годовые ритмы имеют слишком большой период для управления эмбриогенезом, да и онтогенезом многих видов организмов.

**Циркадианный хронометр жизни.** В общем виде гипотезу циркадианных биологических часов, управляющих развитием организма, можно сформулировать следующим образом:

- циркадианный осциллятор лежит в основе биологических часов, отсчитывающих число прожитых дней;
- информация о числе прожитых дней контролирует процесс развития организма;
- длительность различных стадий онтогенеза равна определенному (генетически детерминированному) числу циклов циркадианного осциллятора.

Из данной гипотезы следует, что изменения периода циркадианного осциллятора в  $n$ -раз изменяют темп развития и продолжительность жизни в такое же количество раз. С целью проверки этой гипотезы в лаборатории математического моделирования процессов старения Института геронтологии АМН Украины были проведены исследования на *Drosophila melanogaster*, которых содержали в условиях искусственного освещения при разной длительности “суток” (от 8 до 96 ч). Предполагалось, что такое воздействие изменит период циркадианного осциллятора, а значит, и повлияет на длительность разных периодов онтогенеза. Результаты исследований показали, что уменьшение длительности световых суток укорачивает, а повышение увеличивает период развития дрозофил и продолжительность их жизни [6, 7]. Однако эффект был намного меньше ожидаемого (не более 15 %). Можно предположить, что у мух в этих опытах не происходил полный захват циркадианным осциллятором навязываемого ритма. Однако можно предложить и другое объяснение полученных результатов (вне рамок выдвигаемой гипотезы) и считать их опровергающими гипотезу циркадианного хронометра жизни. Тем более, что есть много других фактов, противоречащих этой гипотезе.

Основным из них является тот факт, что длительность развития и продолжительность жизни пойкилотермных организмов сильно зависят от температуры окружающей среды (а значит, и от температуры их тела). При снижении температуры тела на 5–10 °С наблюдается двукратное увеличение длительности жизни у разных организмов [15]. В то же время, известно, что циркадианные часы являются температурно скомпенсированными, т. е. их период не зависит от температуры тела (конечно, в определенных пределах) [3]. Это соотносится с их предназначением — показывать время суток (день, ночь), которое, как известно, не зависит от температуры.

Кроме температуры тела на темпы развития и старения организмов влияют и другие факторы. Так, развитие личинок дрозофилы значительно замедляется при высокой плотности популяции. При этом продолжительность их жизни увеличивается [17].

Еще более 50 лет назад С. М. McCay установил, что ограничение калорийности рациона молодых крыс замедляет их рост и задерживает половое созревание более чем на 100 сут. Когда таких крыс переводили на нормальный рацион, их рост возобновлялся, они достигали половой зрелости и умирали в гораздо более позднем возрасте, чем животные, получавшие пищу без ограничений [18]. Результаты, полученные в этих опытах, позже были подтверждены другими исследователями [15].

*J. T. Lanman* и соавт. показали, что беременность у мышей продолжается 21 астрономические сутки и не зависит от того, каким периодом захвачены у самки циркадианные ритмы — 21- или 24-часовым [16]. Обобщая данные разных исследований Ф. Девис делает вывод, что длительность жизни не измеряется числом циркадианных циклов (цит. по [3]).

Важным аргументом против хронометра жизни, основанного на внешнем физическом ритме, является то, что ход таких часов не зависит от процессов в организме. Поэтому управление развитием организма с помощью этих часов будет осуществляться без обратной связи. Такое управление может быть успешным только в жестко заданных условиях. Например, превращение личинки дрозофилы в куколку происходит обычно на 5-е сут вследствие “выключения” продукции ювенильного гормона. Отсчитав этот период, биологический хронометр дрозофилы мог бы отключить соответствующий ген. Однако что произойдет, если из-за дефицита корма личинка не успеет набрать достаточную массу к этому времени? Известно, что замедление роста личинки значительно увеличивает период времени до ее окукливания. Поэтому биологические часы, управляющие развитием, не могут иметь постоянную скорость хода. Напротив, скорость их хода должна зависеть от различных регуляторных факторов, несущих информацию о процессе роста и развития организма. Замедление роста организма должно замедлять ход биологических часов.

Часы жизни (назовем их “онтогенетические часы”) должны измерять не физическое, а биологическое время. Это должны быть эндогенные часы, на ход которых влияет температура тела и все те факторы, которые изменяют скорость метаболизма. Тогда такие часы смогут адекватно измерять ход биологического времени и управлять развитием организма. Молекулярный механизм этих часов может быть подобен циркадианным часам, но без температурной компенсации и синхронизации светом. Это должен быть молекулярный осциллятор, запоминающий число циклов собственных колебаний. Длительное запоминание возможно только путем модификации молекулы хромосомной ДНК, так как другие молекулы в клетке недолговечны. Модификация ДНК может состоять в ее укорочении на постоянную величину в каждом цикле онтогенетических часов. В этом А. М. Оловников совершенно прав, хотя тот механизм, который он предлагает в своей гипотезе, на мой взгляд, слишком сложен и построен из “деталей”, которые науке не известны (может быть, пока не известны). Однако этих “деталей” слишком много (более 10). Кроме того, механизм укорочения хронометра, который автор назвал “скраптинг”, на сегодняшний день также неизвестен.

Дальнейшее изложение представляет попытку “изобретения” более простого механизма отсчета времени в клетке, построенного на уже открытых в молекулярной биологии процессах. Это соответствует принципу Оккама, согласно которому при разработке гипотезы следует стремиться к минимуму допущений.



### Онтогенетические часы

Согласно предлагаемой нами гипотезе, онтогенетические часы представляют собой автономный внутриклеточный молекулярный осциллятор, запоминающий количество циклов собственных колебаний путем модификации молекулы ДНК (хроно-ДНК). Онтогенетические часы предназначены для управления онтогенезом путем включения (выключения) “темпоральных генов” через заданное время от начала развития организма (запуска часов).

Следуя принципу Оккама, в качестве осциллятора онтогенетических часов был использован механизм циркадианного осциллятора, который обеспечивает периодические колебания концентрации “часового” белка в клетке. Однако как перевести непрерывный процесс изменения концентрации этого белка в дискретные события укорочения молекулы хроно-ДНК? Решая подобную задачу, А. М. Оловников предположил существование нового, не известного науке биофизического процесса, скраптинга (“механический разрыв хрономерной ДНК, не выдерживающей напора транскрипционной машины, побуждаемой к суперскоростному движению вдоль матрицы пиком гормонального  $T$ -ритма”) [14]. При этом гормональный пик должен быть коротким (около 10 мин) и иметь специфическую последовательность колебаний концентрации гормона. Это нужно для того, чтобы укорочение хрономеры не происходило при других (не связанных с  $T$ -ритмом) колебаниях концентрации гормонов. Процесс скраптинга должен происходить однократно в каждом цикле. То, как это достигается, подробно описано автором, но трудно сформулировать кратко и понятно. Основную роль здесь играет сброс торсионного напряжения хрономерной ДНК при ее укорочении. Такой сложный процесс укорочения хроно-ДНК явился побудительным мотивом придумать более простой механизм. Для отрезания фрагмента хроно-ДНК в каждом цикле специального молекулярно-генетического осциллятора может использоваться хорошо известный фермент — эндонуклеаза рестрикции (рестриктаза) II типа, расщепляющая ДНК в строго определенной точке по отношению к сайту узнавания [12]. Длина сайта связывания на ДНК для различных рестриктаз составляет 4, 6 или 8 нуклеотидов. Важным свойством рестриктазы является ее способность узнавать и связываться только с определенной последовательностью нуклеотидов.

Простейший механизм онтогенетических часов мог бы состоять в том, что часовой белок, синтезирующийся циклически при работе осциллятора, является рестриктазой (или ее активатором). Однако как сделать, чтобы процесс обрезания хроно-ДНК в каждом цикле был однократным? Для этого можно использовать рестриктазу, состоящую из двух субъединиц (например, рестриктаза II  $T$ -типа). Если каждая из этих субъединиц (назовем их белки “ $A$ ” и “ $B$ ”) будет появляться в ядре клетки по очереди и, связываясь с концом хроно-ДНК, образовывать на нем активную рестриктазу, то эта задача будет выполнена. Поэтому осциллятор онтогенетических

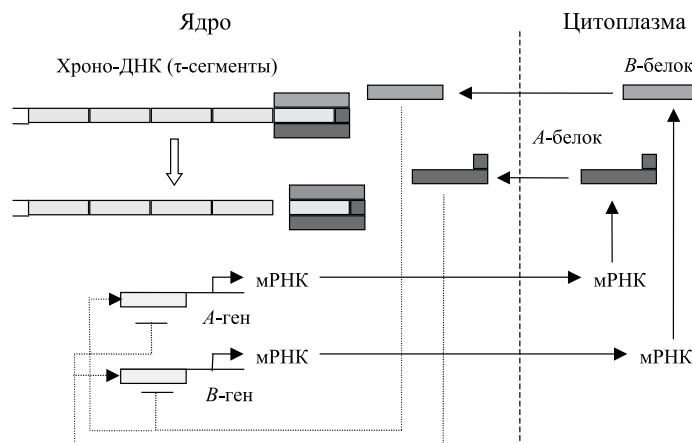


Рис. 2. Схема молекулярно-генетического механизма онтогенетических часов.

часов может быть построен из двух осцилляторов, подобных циркадиан-ным, связанных между собой таким образом, чтобы каждый из них поочередно включался и производил свою субъединицу рестриктазы. Для этого нужно, чтобы *A*-белок блокировал синтез *B*-белка, и наоборот.

Гипотетический молекулярно-генетический механизм онтогенетических часов можно представить следующим образом (рис. 2). Запоминание времени происходит путем отрезания  $\tau$ -сегмента хроно-ДНК с помощью специальной рестриктазы, сборка которой совершается на концевом  $\tau$ -сегменте из белков *A* и *B* в каждом цикле работы осциллятора. Эти белки последовательно синтезируются на рибосомах, так как каждый из них ингибирует синтез другого. Кроме того, каждый из этих белков является репрессором собственного гена и активатором гена другого белка.

#### ***Гипотетический механизм онтогенетических часов***

1. Для отсчета времени жизни (биологического времени) служит специализированная ДНК (хроно-ДНК), состоящая из многократно повторяющихся одинаковых коротких последовательностей нуклеотидов —  $\tau$ -сегментов.

2. В каждом цикле онтогенетических часов отрезается один концевой  $\tau$ -сегмент хроно-ДНК с помощью специфической рестриктазы ( $\tau$ -рестриктазы), имеющей участок связывания с этим сегментом.

3.  $\tau$ -рестриктаза состоит из двух субъединиц (*A*- и *B*-белков), последовательно связывающихся с концевым  $\tau$ -сегментом хроно-ДНК. Эти белки имеют участки связывания, специфичные для последовательности нуклеотидов в  $\tau$ -сегменте.

4. Синтез каждой субъединицы разделен во времени и происходит последовательно: когда в ядре клетки есть в свободном состоянии первая

субъединица (*A*-белок), — нет второй (*B*-белка), и наоборот. Это необходимо для однократного обрезания хроно-ДНК в одном цикле.

5. Сначала (в первой фазе цикла) синтезируется и связывается с концом хроно-ДНК *A*-белок. Затем, после полного распада свободного *A*-белка, запускается синтез *B*-белка, который также связывается с концом хроно-ДНК и вместе с *A*-белком образует  $\tau$ -рестриктазу.

6. После отсечения  $\tau$ -рестриктазой концевой  $\tau$ -сегмента хроно-ДНК комплекс “ $\tau$ -рестриктаза +  $\tau$ -сегмент” распадается.

7. *A*-белок связывается с освободившимся концевым сегментом хроно-ДНК и “ждет” появления *B*-белка, чтобы образовать с ним  $\tau$ -рестриктазу и снова отрезать концевой  $\tau$ -сегмент хроно-ДНК в следующем цикле осциллятора.

#### ***Циклы работы осциллятора онтогенетических часов***

1. В первой фазе  $\tau$ -цикла под влиянием *B*-белка активируется ген *A*-белка и синтезируется его мРНК. Далее она диффундирует в цитоплазму, где на рибосомах начинается синтез *A*-белка. Этот синтез возможен только при отсутствии *B*-белка, так как последний, связываясь с мРНК, блокирует трансляцию. Поэтому синтез *A*-белка начинается после разрушения *B*-белка.

2. Затем *A*-белок диффундирует в ядро, где он связывается с концевым  $\tau$ -сегментом хроно-ДНК, блокирует собственную продукцию, связываясь с регуляторным участком своего гена, а также активирует ген, кодирующий *B*-белок. Свободные молекулы *A*-белка быстро разрушаются.

3. Вторая фаза  $\tau$ -цикла начинается с активации гена, кодирующего *B*-белок, и синтеза его мРНК. Далее происходит диффузия мРНК в цитоплазму и синтез *B*-белка на рибосомах. Синтез начинается только после полного разрушения *A*-белка, который блокирует синтез *B*-белка, связываясь с его мРНК.

4. Далее *B*-белок диффундирует в ядро, где связывается с концевым  $\tau$ -сегментом хроно-ДНК и образует вместе с *A*-белком (который связался с концом хроно-ДНК в первой фазе цикла)  $\tau$ -рестриктазу. Последняя обрезает концевой  $\tau$ -сегмент хроно-ДНК. Обрезанный комплекс “ $\tau$ -сегмент +  $\tau$ -рестриктаза” разрушается.

5. *B*-белок блокирует собственную продукцию, связываясь с регуляторным участком собственного гена, и активирует продукцию *A*-белка, соединяясь с регуляторным участком его гена. Свободные молекулы *B*-белка быстро разрушаются. Снова наступает первая фаза цикла.

Блок-схема осциллятора онтогенетических часов, который состоит из двух (связанных положительными обратными связями) гомеостатических систем синтеза *A*- и *B*-белков, представлена на рис. 3.

Транскрипция генов *A* и *B* определяет скорость синтеза мРНК для этих белков ( $V_s mA$ ,  $V_s mB$ ). От скорости синтеза мРНК зависит ее концентрация в ядре и цитоплазме ( $[mA]$ ,  $[mB]$ ). Последняя определяет скорость синтеза

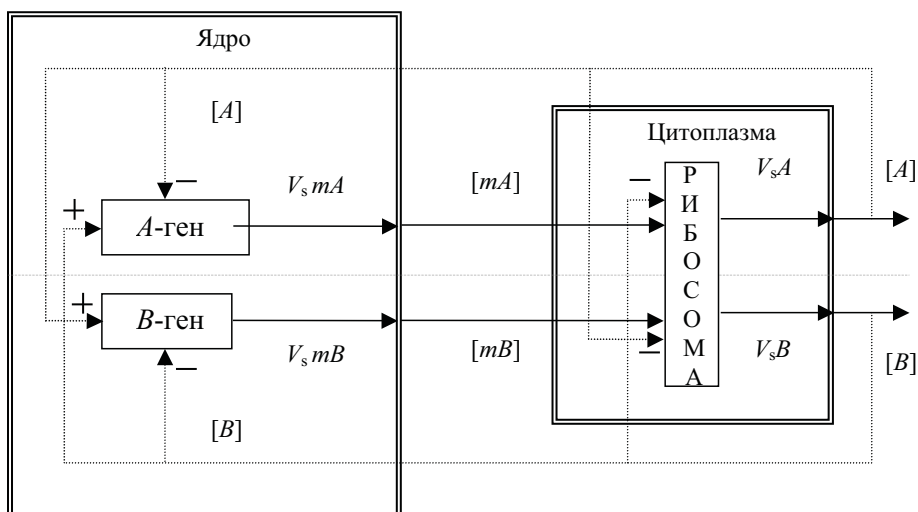


Рис. 3. Блок-схема осциллятора онтогенетических часов:  $[A]$ ,  $[B]$  — концентрации  $A$ - и  $B$ -белков;  $V_s mA$ ,  $V_s mB$  — скорости синтеза мРНК для белков  $A$  и  $B$ ;  $[mA]$ ,  $[mB]$  — концентрации мРНК для белков  $A$  и  $B$ ;  $V_s A$ ,  $V_s B$  — скорости синтеза белков  $A$  и  $B$ ; сплошные линии — прямые, а пунктирные — обратные положительные (+) и отрицательные (–) связи.

белков  $A$  и  $B$  на рибосомах, а значит, и их концентрацию в клетке ( $[A]$ ,  $[B]$ ). Для предотвращения избыточной продукции этих белков они тормозят синтез собственных мРНК, являясь репрессорами собственных генов. Такая отрицательная обратная связь обеспечивает гомеостаз белков  $A$  и  $B$ .

Для того чтобы система в целом работала как надежный осциллятор, в ней есть положительные обратные связи между ее подсистемами. Продукт одной подсистемы (белок  $A$ ) стимулирует продукцию другой подсистемы (белка  $B$ ), и наоборот. Это обеспечивается тем, что  $A$ -белок является активатором  $B$ -гена, а  $B$ -белок — активатором  $A$ -гена.

Однако поочередное появление белков  $A$  и  $B$  в ядре (для однократного обрезания хроно-ДНК в одном цикле) обеспечивают перекрестные отрицательные обратные связи между концентрациями этих белков в цитоплазме и скоростью их синтеза на рибосомах. Белок  $A$  является репрессором синтеза белка  $B$ , а белок  $B$  — репрессором синтеза белка  $A$ .

### Математическая модель онтогенетических часов

В основу этой модели положена математическая модель простейших циркадианных часов [19].

1. Концентрация мРНК для  $A$ -белка ( $[mA]$ ) зависит от скорости ее синтеза ( $V_1$ ) и распада ( $V_2$ ):

$$\frac{d[mA]}{dt} = V_1 - V_2.$$

2. Скорость синтеза мРНК ( $V_1$ ) зависит от концентрации  $A$ -белка ( $[A]$ ), ингибирующего синтез своей мРНК, и концентрации  $B$ -белка, который является активатором синтеза  $A$ -белка:

$$V_1 = k_1 \frac{[B]}{1 + [A]^n},$$

где:  $k_1$  — константа транскрипции,  $n$  — коэффициент Хилла.

3. Скорость распада мРНК ( $V_2$ ) пропорциональна ее концентрации ( $[mA]$ ):

$$V_2 = k_2 [mA],$$

где:  $k_2$  — константа скорости распада мРНК.

4. Концентрация  $A$ -белка ( $[A]$ ) зависит от скорости его синтеза на рибосомах ( $V_3$ ) и скорости его разрушения ( $V_4$ ):

$$\frac{d[A]}{dt} = V_3 - V_4.$$

5. Скорость синтеза  $A$ -белка на рибосомах ( $V_3$ ) пропорциональна концентрации его мРНК ( $[mA]$ ) и равна нулю, если концентрация  $B$ -белка больше пороговой ( $p$ ):

$$V_3 = k_3 [mA]_{\tau}^m, \text{ если } [B] \leq p,$$

$$V_3 = 0, \text{ если } [B] > p,$$

где:  $k_3$  — константа трансляции,  $m$  — константа нелинейности,  $\tau$  — временная задержка,  $p$  — порог блокирования синтеза.

6. Скорость распада  $A$ -белка ( $V_4$ ) пропорциональна его концентрации:

$$V_4 = k_4 [A],$$

где:  $k_4$  — константа скорости распада  $A$ -белка.

Компактно систему можно представить в виде двух дифференциальных уравнений:

$$\frac{d[mA]}{dt} = k_1 \frac{[B]}{1 + [A]^n} - k_2 [mA],$$

$$\frac{d[A]}{dt} = k_3 [mA]_{\tau}^m - k_4 [A].$$

Аналогичные уравнения описывают систему синтеза  $B$ -белка. При этом во всех уравнениях  $A$  заменяем на  $B$ , а  $B$  — на  $A$ .

Для получения нужной динамики системы были подобраны следующие значения параметров модели онтогенетических часов:

$k_1$  (константа транскрипции) — 1,0 нмоль/ч,  
 $k_2$  (константа скорости распада мРНК) — 0,26 нмоль/(л·ч),  
 $k_3$  (константа трансляции) — 9,0 нмоль/(л·ч),  
 $k_4$  (константа скорости распада белка) — 0,3 нмоль/(л·ч),  
 $\tau$  (временная задержка системы) — 4 ч,  
 $p$  (порог блокирования синтеза белка) — 0,01 нмоль/л,  
 $n$  (коэффициент Хилла) — 2,  
 $m$  (константа не линейности) — 3.

Расчетная динамика концентраций белков  $A$  и  $B$  представлена на рис. 4. Так, концентрации белков меняются поочередно с постоянным периодом. Концентрация  $A$ -белка начинает увеличиваться только тогда, когда исчезает  $B$ -белок, и наоборот. Этим достигается однократность отрезания сегмента хроно-ДНК в каждом цикле осциллятора и таким образом происходит запоминание числа циклов. Амплитуда колебаний постепенно нарастает от исходного значения, принятого близким к нулю, и выходит на стационарный уровень (предельный цикл). Расчетный период между пиками концентраций  $A$ - и  $B$ -белков при заданных параметрах модели равен 24,4 ч. Изменяя параметры модели, можно изменить и этот период. Вероятно, он близок к периоду циркадианного осциллятора, так как онтогенетические часы представляют собой систему из двух связанных осцилляторов, подобных циркадианным часам.

Период колебаний онтогенетических часов должен зависеть от температуры тела: увеличивается при ее снижении и уменьшается при ее росте. Это следует в связи с тем, что от температуры зависит скорость диффузии макромолекул и активность ферментов, а значит, — скорость синтеза мРНК и белков.

Механизм отсчета времени жизни организма, описанный в настоящей работе, отличается от предложенного А. М. Оловниковым следующим: — в основе онтогенетических часов лежит автономный молекулярно-генетический осциллятор, а не биологический  $T$ -ритм, синхронизированный с природным ритмом; поэтому измеряется биологическое, а не физи-

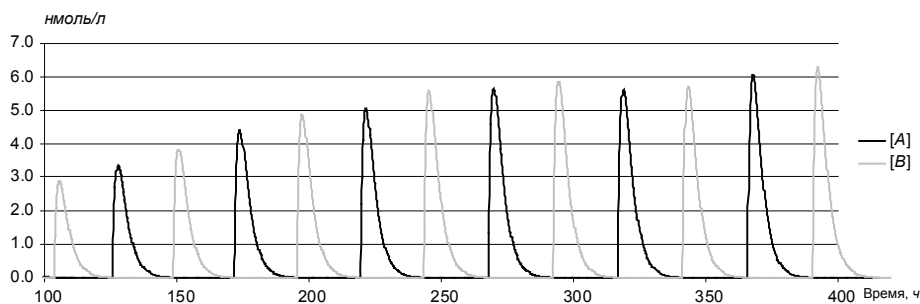


Рис. 4. Расчетная динамика концентраций белков  $A$  и  $B$  в клетке (математическая модель).

ческое время, и скорость хода онтогенетических часов зависит от температуры тела;

– механизм укорочения хроно-ДНК связан со сборкой на ее концевом сегменте особой рестриктазы (из двух субъединиц, последовательно появляющихся в ядре клетки), а не со сверхскоростной транскрипцией (скрап-тингом).

Таким образом, отличие описанного механизма от его “прототипа” носит принципиальный характер. Кроме того, можно полагать, что он проще и основан на меньшем числе допущений.

**Механизм управления онтогенезом с помощью хроно-ДНК**

Хроно-ДНК (хрономера по А. М. Оловникову) представляет собой копию части хромосомной ДНК клетки, состоящую из повторяющихся последовательностей как минимум 4 нуклеотидов и в которую “вставлены” темпоральные (временные) гены (рис. 5). Эти гены регламентируют последовательность и длительность отдельных этапов развития организма [4]. Так, если у дикого штамма амебы биологическая программа развития реализуется за 24 ч, то у мутантов по темпоральным генам она может “сжиматься” до 16 или “растягиваться” до 60 ч.

По своей функции темпоральные гены являются регуляторными (в том числе *Нох*-генами), управляющими экспрессией других генов. В соответствии с гипотезой А. М. Оловникова, один конец хроно-ДНК прикреплен к хромосоме, а другой остается свободным и укорачивается.

Можно было бы предположить, что хроно-ДНК является концевой частью хромосомной ДНК. Это упростило бы “конструкцию”. Однако тогда возникает проблема с теломерами, которые укорачиваются при делении клеток. Хроно-ДНК не должна изменяться при делении клеток, а только в каждом цикле онтогенетических часов. Ведь именно благодаря этому отсчет времени возможен и в неделящихся клетках. Более того, у организмов, имеющих головной мозг, онтогенетические часы в нервных клетках гипоталамуса могут с помощью эндокринной системы управлять развитием всего организма.

Отсчет времени жизни организма происходит путем отрезания  $\tau$ -сегментов (по одному в каждом цикле онтогенетических часов). Когда

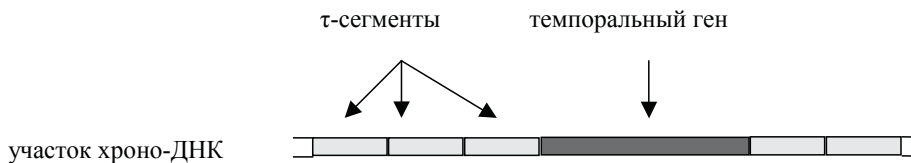


Рис. 5. Схема структуры хроно-ДНК, состоящей из  $\tau$ -сегментов и темпоральных генов.

обнажается конец очередного темпорального гена, в действие вступает экзонуклеаза, быстро разрушающая этот ген путем удаления по одному нуклеотиду. Концевые  $\tau$ -сегменты экзонуклеаза разрушить не может, так как с ними постоянно связан либо *A*-, либо *B*-белок. После разрушения темпорального гена прекращается синтез репрессора (активатора) ряда других генов и изменяется их экспрессия. В результате наступает очередной этап онтогенеза.

Длина хроно-ДНК должна быть достаточной для отсчета времени в течение всего периода онтогенеза. Для человека эта величина примерно равна: 4 (нуклеотида)  $\times$  365 (дней в году)  $\times$  100 (лет) = 146 тыс. пар нуклеотидов. Если прибавить еще суммарную длину темпоральных генов, то эта величина может удвоиться. Есть ли на хромосомах некодирующие участки такой длины? Известно, что средняя длина негенных участков ДНК в одной хромосоме человека составляет около 65217 тыс. пар оснований (95 % общей длины хромосомной ДНК) [12]. Назначение этой части ДНК пока не выяснено. Некодирующая ДНК имеет длинные участки повторов разных последовательностей нуклеотидов, которые могут использоваться для программирования онтогенеза (хроно-ДНК). Если в хромосомной ДНК нет непрерывной повторяющейся последовательности нужной длины, то программа развития может быть записана на разных участках хромосомной ДНК. Тогда необходимо, чтобы окончание “считывания” одной молекулы хроно-ДНК запускало синтез и начало “считывания” следующей. Для этого достаточно, чтобы в конце каждой молекулы хроно-ДНК был темпоральный ген, кодирующий ингибитор синтеза следующей молекулы хроно-ДНК. Когда очередь доходит до этого гена и он разрушается, запускается синтез на хромосомной матрице очередной молекулы хроно-ДНК.

Таким образом, хроно-ДНК представляет собой программу развития организма, так как задает время изменения экспрессии многих хромосомных генов.

### **Онтогенетические часы и старение**

Старость как последний этап онтогенеза может быть легко запрограммирована эволюцией в хроно-ДНК (“гены смерти”) и ограничивать продолжительность жизни. Однако в этом есть смысл только тогда, когда реальная продолжительность жизни особей в популяции слишком велика и тормозит смену поколений, необходимую для адаптации к изменяющейся среде. В действительности же, реальная продолжительность жизни особей намного меньше их видового предела. Поэтому необходимости в “механизме смерти” нет [5].

Отсюда правомерен вопрос: какое отношение описанный механизм контроля биологического времени имеет к старению? Является ли работа этого механизма причиной старения? Для ответа на этот вопрос необходимо вспомнить элевационную теорию В. М. Дильмана, в которой он посту-



лировал, что старение является следствием безостановочной работы механизма развития [8–10]. В. М. Дильман обосновал единую причину развития и старения — рост порога гипоталамуса по отношению к гормональным сигналам отрицательной обратной связи. Если рассматривать репродуктивную систему, то быстрый рост порога гипоталамуса по отношению к эстрогенам в подростковом возрасте приводит к половому созреванию (из-за значительного увеличения продукции половых гормонов), а затем (в 40–50 лет у женщин) — к “выключению” половой функции (менопаузе) вследствие “обрыва” обратной связи. “Выключение” репродуктивной системы у женщин необходимо потому, что, начиная с 40 лет, экспоненциально растет частота развития болезни Дауна и другой генетической патологии, связанной с накоплением мутаций в яйцеклетках.

Рост порога гипоталамуса с возрастом приводит к постепенному отклонению от гомеостаза и в других эндокринных системах. В конечном счете эти отклонения становятся несовместимыми с жизнью. В. М. Дильман назвал гипоталамус “Большими биологическими часами”. Однако вопрос о том, почему в онтогенезе изменяется порог гипоталамуса, остался открытым. Возможно “Большие биологические часы” В. М. Дильмана это и есть онтогенетические часы в клетках гипоталамуса.

Как проверить, что старение является следствием реализации генетической программы развития? Например, можно попытаться остановить развитие дрозофилы на стадии личинки введением ювенильного гормона, который вырабатывается в ее организме на этой стадии онтогенеза и препятствует ее превращению в куколку. Будет ли дрозофила стареть, оставаясь личинкой? Как это повлияет на ее продолжительность жизни? У крыс можно затормозить половое созревание введением мелатонина. Ведь известно, что падение продукции мелатонина в организме инициирует половое развитие, повышая порог чувствительности гипоталамуса к половым гормонам.

А если остановить онтогенетические часы сразу после окончания периода развития, может быть, и стадия старения не наступит? Интересный случай, который можно интерпретировать как остановку часов жизни, описан В. F. Walker и соавт. [20]. Девочка Брук Гринберг антропометрически и на вид соответствует нормальному 11-месячному ребенку, хотя хронологически ей уже 16 лет. Структура мозга и нейроэндокринные функции соответствуют младенческому возрасту. При этом у нее отсутствуют известные науке генетические аномалии.

Клеточные часы, описанные в настоящей работе, могут также использоваться для включения механизма самоуничтожения клетки (апоптоза), ограничивая таким образом продолжительность жизни клеток с целью их обновления и предотвращения малигнизации. Известный механизм счета клеточных делений для этого не годится, так как клетки *in vivo* далеко не исчерпывают свой теломерный лимит. Делящиеся клетки не погибают после очередного деления, исчерпав лимит Хейфлика, а дифференцируют-

ся и в этом состоянии долгое время выполняют свои функции. Однако их нужно через какое то время заменять на новые, так как в них накапливаются повреждения. Считается, что “критические” повреждения запускают процесс апоптоза. Но лучше бы было заменять эти клетки раньше, пока эти повреждения не запустили процесс канцерогенеза.

Каждый вид неделищихся дифференцированных клеток имеет свою определенную продолжительность жизни в многоклеточном организме, которая обычно намного меньше продолжительности жизни организма (исключение — нейроны). Если смерть клетки не вызвана случайными повреждениями (преждевременная смерть), то она, видимо, наступает вследствие включения программы самоуничтожения через определенное время. Что включает эту программу? Только ли накопление повреждений в клетках? Но тогда в организме должно быть много старых, частично поврежденных клеток. Можно предположить, что для запуска апоптоза через заданное время используются внутриклеточные часы, отсчитывающие время жизни клетки. Тогда такой апоптоз можно с полным правом назвать запрограммированным.

Кроме того, без апоптоза невозможен морфогенез в период эмбрионального развития. Для этой цели также может использоваться механизм отсчета времени жизни клетки.

Часы, отсчитывающие время нашей жизни, обычно являются лишь красивым литературным образом в научно-популярных статьях о старении. В науке всерьез они не рассматривались. Даже у В. М. Дильмана, его “Большие биологические часы” не более чем метафора. В. Н. Анисимов пишет об эпифизе как о хронометре жизни. Но это опять лишь “литературный образ”. Впервые детальный молекулярный механизм часов, отсчитывающих время жизни, представил А. М. Оловников. Однако в его гипотезе отсчет времени жизни организм осуществляет, “пользуясь” внешними “часами” — физическими ритмами окружающей среды.

В настоящей работе описан гипотетический механизм автономного молекулярно-генетического осциллятора, не синхронизированного с ритмами окружающей среды и меняющего период своих колебаний при изменении скорости метаболизма. Однако этот конкретный механизм следует рассматривать лишь как один из возможных вариантов хронометра жизни. Вполне вероятно, что реальная система окажется значительно отличающейся от модели. Эти различия могут касаться не только параметров системы, периода колебаний, но и ее структуры. Можно предложить много различных механизмов биологических часов, но ответить на вопрос, какой из них “изобрела” природа, могут только экспериментальные исследования.

Целью этой работы было обосновать необходимость и возможность существования в живых системах механизма отсчета времени жизни. Может быть, эта работа направит кого-то на поиск такого механизма.

## Литература

1. *Анисимов В. Н.* Молекулярные и клеточные механизмы старения. — СПб.: Наука, 2003. — 468 с.
2. *Анисимов В. Н.* Эпифиз, биоритмы и старение организма // Успехи физиологических наук. — 2008. — **39**, № 4. — С. 40–65.
3. *Биологические ритмы* / Под ред. Ю. Ашофф. — М.: Мир, 1984. — Т. 1. — 414 с.
4. *Войтенко В. П.* Время и часы как проблема теоретической биологии // Вопр. философии. — 1985. — № 1. — С. 73–82.
5. *Войтенко В. П., Полухов А. М.* Системные механизмы развития и старения. — Л.: Наука, 1986. — 184 с.
6. *Войтенко В. П., Вайсерман А. М., Кошель Н. М. и др.* Зависимость длительности отдельных периодов этагенеза *Drosophila melanogaster* от длительности циклов “свет/темнота” во время развития насекомых // Пробл. старения и долголетия. — 2006. — **15**, № 2. — С. 104–111.
7. *Войтенко В. П., Вайсерман А. М., Кошель Н. М. и др.* Продление жизни *Drosophila melanogaster* при увеличении длительности циркадианного периода // Пробл. старения и долголетия. — 2007. — **16**, № 3. — С. 211–219.
8. *Дильман В. М.* Большие биологические часы. — М.: Знание, 1986. — 256 с.
9. *Дильман В. М.* Почему наступает смерть. — Л.: Медицина, 1972. — 199 с.
10. *Дильман В. М.* Четыре модели медицины. — Л.: Медицина, 1987. — 288 с.
11. *Комаров Ф. И., Рапопорт С. И.* Хронобиология и хрономедицина. — М.: Триада Х., 2000. — 488 с.
12. *Мушкамбаров Н. Н., Кузнецов С. Л.* Молекулярная биология. — М.: Мед. информ. агенство, 2003. — 544 с.
13. *Оловников А. М.* Первопричина старения заключена в укорочении редумер — перихромосомных линейных молекул ДНК, а вовсе не теломер — “линеек” биологического времени // Феномен и ноумен времени. — 2005. — **2**, № 2. — С. 294–316.
14. *Оловников А. М.* Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии // Биохимия. — 2003. — **68**, вып. 1. — С. 7–41.
15. *Фролькис В. В., Мурадян Х. К.* Экспериментальные подходы к продлению жизни. — Л.: Наука, 1988. — 234 с.
16. *Lanman J. T., Seidman L.* Length of gestation in mice under a 21-hour day // Biol. reproduct. — 1977. — **17**. — P. 224–227.
17. *Lints F. A., Lints C. V.* Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in *Drosophila melanogaster* hybrids. III. Developmental speed and life-span // Exp. Gerontol. — 1971. — **6**. — P. 427–445.
18. *McCay C. M.* Chemical aspects of ageing and the effect of diet upon ageing // Cowdry's problems of ageing, biological and medical aspects: 3<sup>rd</sup> edn. / Ed. A. I. Lansing-Baltimore: Williams and Wilkins, 1952. — P. 139–202.
19. *Scheper T., Klinkenberg D., Pennartz C., Pelt J.* A mathematical model for the intracellular circadian rhythm generator // J. Neurosci. — 1999. — **19**, № 1. — С. 40–47.
20. *Walker R. F., Pakula L. C., Sutcliffe M. J. et al.* A case study of “disorganized development” and its possible relevance to genetic determinants of aging // Mech. Ageing Dev. — 2009. — **30**, № 5. — P. 350–356.

Поступила 29.09.2009

## ONTOGENETIC CLOCK: POSSIBLE MOLECULAR-GENETIC MECHANISM

A. V. Pisaruk

State Institution "D.F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine",  
04114 Kyiv

Proposed is a hypothesis of the mechanism providing for the cell to count out the time of life and to change (according to the set program) the expression of chromosomal genes in order to control ontogenesis ("ontogenetic clock"). This mechanism represents an autonomous molecular-genetic oscillator, which memorizes the number of cycles of own oscillations through cutting the terminal  $\tau$ -segment of chrono-DNA using special restrictase. The latter is formed at this segment out of two sub-units (proteins) in each cycle of oscillator operation. These proteins are alternately synthesized on ribosomes, since each inhibits the synthesis of the other, thus ensuring successive binding of restrictase sub-units at the terminal segment of chrono-DNA and its single section in one cycle. In addition, each of these proteins is a repressor of own gene and activator of the gene of the other protein, thus ensuring efficiency and reliability of oscillator operation. The design of oscillator of ontogenetic clock is similar to that of circadian oscillator, but its frequency is not synchronized with the nature's physical rhythms and depends on body temperature. Therefore, it is physical, rather than biological time, that is measured. The chrono-DNA consists of short repetitive sequences of nucleotides ( $\tau$ -segments) and temporal (regulatory) genes inserted over specified number of these segments. The shortening of chrono-DNA leads to uncovering the next gene and to its destruction by exonuclease. As a result, the synthesis of activator (repressor) stopped and the expression of some chromosomal genes changed, initiating the next stage of ontogenesis.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ ПРИ ВВЕДЕНИИ АДРЕНАЛИНА

Г. В. Дужак, О. В. Коркушко

Государственное учреждение “Институт геронтологии  
им. акад. Д. Ф. Чеботарева АМН Украины”, 04114 Киев

При обследовании 10 практически здоровых людей в возрасте 20–29 лет и 10 чел. в возрасте 60–74 лет показано, что внутримышечное введение адреналина в дозе 0,007 мг на 1 кг массы тела вызывает увеличение вязкости крови, повышение агрегационной активности эритроцитов и тромбоцитов, а также усиление адгезивной способности тромбоцитов. При этом изменения реологических свойств крови были более выраженными и более длительно сохранялись у людей старше 60 лет. Отсутствие восстановления измененных значений реологических показателей к исходному уровню через 180 мин после введения адреналина свидетельствует о снижении адаптационных возможностей организма пожилых людей к стрессовым воздействиям. Полученные данные важны для понимания роли возрастных изменений реологических свойств крови в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, в частности тромбозов при стрессовых воздействиях.

**Ключевые слова:** вязкость крови, тромбоциты, эритроциты, катехоламины, старение.

Симпато-адреналовая система играет важную роль в регуляции гомеостаза при различных функциональных состояниях организма, которая осуществляется опосредованно через гормонально-медиаторное звено — катехоламины. Современная концепция о физиологическом значении адреналина основана на взглядах *W. B. Cannon* [23] об исключительной роли моз-

гового слоя надпочечников при “аварийных” для организма ситуациях, на представлениях *H. Selye* [30] об общем адаптационном синдроме и учении Л. А. Орбели [11] об адаптационно-трофической функции симпато-адреналовой системы. Механизм действия экзогенных катехоламинов сложен. Введенные извне катехоламины оказывают периферическое, центральное и рефлекторное влияние. Физиологические эффекты, наблюдающиеся при введении катехоламинов, связаны не только с их прямым влиянием на эффекторные органы, но и в значительной степени с изменением вегетативного равновесия. Катехоламины как основные гуморальные агенты первой фазы адаптационного синдрома при введении в организм неизбежно вызывают ряд изменений гормонального гомеостаза, которые наблюдаются при стрессовых реакциях, то есть они индуцируют состояние стресса.

В исследованиях, выполненных нами ранее, было показано, что с возрастом происходят существенные изменения в реактивности симпато-адреналовой системы [8, 10]. На фоне снижения тонуса и реактивности вегетативной нервной системы отмечается относительное преобладание тонуса симпатической системы в связи со снижением тонуса парасимпатической системы и симпато-ингибиторных механизмов, что и предопределяет адренергические особенности гомеостаза в старости. Если учесть изменения реактивности симпато-адреналовой системы, особенно мета- и катаболизма катехоламинов при старении, то необходимо сделать вывод о том, что в пожилом и старческом возрасте изменится характер реагирования системы свертывания и фибринолиза при экзогенном введении этих веществ.

Это предположение нашло подтверждение в выполненных нами ранее исследованиях [7, 9, 10]. Изучалось влияние катехоламинов (адреналина и норадреналина) на значения некоторых показателей коагуло- и тромбоэластограммы у практически здоровых молодых, пожилых и старых людей. Было установлено, что у пожилых людей под влиянием введения адреналина повышалась активность свертывающей системы крови при недостаточной активации антисвертывающих механизмов. Авторами были использованы малые дозы адреналина из расчета 0,007 мг на 1 кг массы тела. Использование малых доз адреналина обусловлено известным в нейроэндокринологии эффектом: малые дозы медиаторов и гормонов обладают стимулирующим влиянием на функциональную активность нейроэндокринной системы или отдельно взятой эндокринной железы, а большие — тормозящим действием [6, 16, 17, 22].

Вместе с тем, следует отметить, что в этих исследованиях не рассматривались изменения реологических свойств крови под влиянием введения адреналина. В то же время, эти данные имеют большое значение для понимания формирования тромба и тромбоэмболических осложнений при стрессирующих воздействиях. Нам представляется, что дальнейшее изучение этого вопроса, с учетом результатов выполненных ранее исследований позволит обосновать представления о формировании развития тромбозов у людей старшего возраста.

Цель нашей работы — исследование влияния адреналина на систему реологии крови для изучения возрастных особенностей регуляции системы гемостаза.

**Обследуемые и методы.** Реологические свойства крови при введении адреналина изучали у 10 практически здоровых людей в возрасте 20–29 лет и у 10 чел. в возрасте 60–74 лет.

Адреналин вводили внутримышечно из расчета 0,007 мг на 1 кг массы тела, что в среднем составило 0,5 мл 0,1 % раствора. Забор крови осуществляли из локтевой вены перед введением адреналина на 45-й, 90-й и 180-й мин после введения препарата.

Вязкость крови определяли на аппарате ЭВ–3 (Россия) при скоростях сдвига в диапазоне 0,16–57,9 с<sup>-1</sup>. Агрегационную активность тромбоцитов и эритроцитов изучали на аппарате *Thromlite-1006A* (СП БиохимМак, Москва). Адгезивную способность тромбоцитов изучали путем подсчета тромбоцитов на электронном счетчике “*Picoscale-PS-4*” (*Medicor*, Венгрия) до и после пропускания крови через адсорбционную колонку. Концентрацию фибриногена определяли унифицированным гравиметрическим методом.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ полученных результатов показал, что при введении адреналина наблюдалось незначительное увеличение вязкости крови у молодых людей, тогда как у лиц старше 60 лет достоверные изменения вязкости крови проявились на всех скоростях сдвига (таблица).

При рассмотрении плазменных факторов, которые, как известно, могут оказывать влияние на вязкость крови, изменений не было выявлено. Так, концентрация фибриногена практически соответствовала исходным величинам (см. табл.). Вместе с тем, после введения адреналина были обнаружены изменения клеточных факторов. В частности, отмечено достоверное увеличение агрегационной способности эритроцитов у пожилых людей (см. табл.).

Введение адреналина привело также к изменению функционального состояния тромбоцитов как у людей молодого возраста так и особенно у пожилых людей. Повысилась агрегационная способность тромбоцитов. Причем у молодых людей эти изменения были достоверны только на пике действия адреналина (45-я мин), тогда как у людей старше 60 лет агрегация тромбоцитов была более выражена по сравнению с молодым возрастом не только на пике действия препарата, но сохранялась также на 90-й и 180-й мин после введения адреналина. Также отмечено, что после введения этого препарата наблюдается повышение адгезивных свойств тромбоцитов. У молодых людей она достоверно повысилась на 45-й мин, а к 180-й мин практически возвратилась к исходному уровню. У пожилых людей по сравнению с молодыми адгезивная активность тромбоцитов после введе-

**Сдвиги значений реологических показателей крови после внутримышечного введения адреналина у практически здоровых людей разного возраста**

Показатель	Исходные данные	Сдвиги после введения адреналина			
		45 мин	90 мин	180 мин	
20–29 лет					
Вязкость, <i>сПз</i>	0,16 с <sup>-1</sup>	23,74 ± 1,06	1,45 ± 0,68	0,12 ± 0,53	0,03 ± 0,18
при скоростях сдвига	3,00 с <sup>-1</sup> 45,2 с <sup>-1</sup>	6,98 ± 0,57	0,79 ± 0,48	0,15 ± 0,45	-0,12 ± 0,12
Агрегация эритроцитов, % ОП		3,67 ± 0,68	1,12 ± 0,54	0,34 ± 0,49	0,07 ± 0,07
Адгезия тромбоцитов, %		7,49 ± 1,50	2,71 ± 1,39	1,92 ± 0,75	0,21 ± 0,11
Агрегация тромбоцитов, % ОП		14,88 ± 1,69	3,62 ± 1,49*	2,19 ± 0,79	0,31 ± 0,13
Фибриноген, г/л		21,75 ± 1,19	4,65 ± 1,12*	2,45 ± 0,68	-0,15 ± 0,15
		3,32 ± 0,04	-0,07 ± 0,02	-0,08 ± 0,03	-0,07 ± 0,02
Старше 60 лет					
Вязкость, <i>сПз</i>	0,16 с <sup>-1</sup>	31,35 ± 1,35 <sup>#</sup>	1,67 ± 0,45*	0,53 ± 0,41	0,24 ± 0,38
при скоростях сдвига	3,00 с <sup>-1</sup> 45,2 с <sup>-1</sup>	10,42 ± 0,58 <sup>#</sup>	1,95 ± 0,47*	0,86 ± 0,42	0,46 ± 0,39
Агрегация эритроцитов, % ОП		4,87 ± 0,49	2,75 ± 0,58**	1,04 ± 0,47*	0,78 ± 0,43 <sup>#</sup>
Адгезия тромбоцитов, %		2,93 ± 1,32 <sup>#</sup>	3,59 ± 1,08*	2,93 ± 0,93*	1,64 ± 0,68 <sup>#</sup>
Агрегация тромбоцитов, % ОП		22,96 ± 1,49 <sup>#</sup>	4,93 ± 1,27*	3,60 ± 1,10*	1,71 ± 0,79 <sup>#</sup>
Фибриноген, г/л		34,89 ± 1,89 <sup>#</sup>	8,07 ± 1,58**	5,67 ± 1,25**	3,08 ± 1,07**
		3,85 ± 0,05 <sup>#</sup>	0,12 ± 0,06	-0,02 ± 0,02	-0,07 ± 0,03

*Примечания:* ОП — оптическая плотность, *сПз* — единицы вязкости сантипаузы; \* — достоверность сдвига <0,05, # — *P*<0,05 по сравнению с возрастом 20–29 лет.

ния адреналина была значительно выше на пике действия препарата, а к 180-й мин еще не вернулась к исходному уровню.

Обобщая полученные данные, следует указать, что введение адреналина вызывает изменения реологических свойств крови. Повышение вязкости крови связано с увеличением агрегационной активности эритроцитов и тромбоцитов, а также с повышением их адгезии. При этом наиболее выраженные изменения отмечены у людей пожилого возраста.

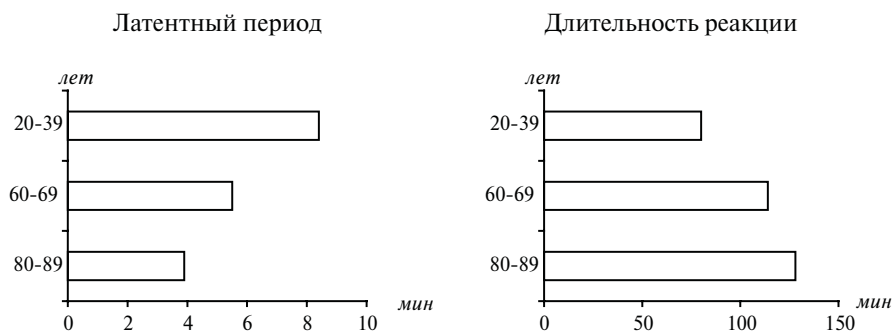
Рассматривая возможные факторы влияния на изменения реологических свойств крови, считаем возможным остановиться на следующем: во-первых, это непосредственное влияние введенного адреналина на клетки (в частности, эритроциты и тромбоциты); во-вторых, повышенное поступление катехоламинов в сосудистое русло в связи с активацией симпато-адреналовой системы. Выдвинутое положение находит подтверждение в выполненных клинических и экспериментальных исследованиях. Так, в работах, выполненных в Институте геронтологии [8, 15], было показано, что после внутримышечного введения 0,5 мл 0,1 % раствора адреналина у пожилых людей в 2 раза увеличивается суточная экскреция катехоламинов с мочой, в то время как у людей молодого возраста она практически не отличается от исходного уровня. Это свидетельствует о более высокой



концентрации катехоламинов в крови у людей старшего возраста в связи с более выраженной активацией симпато-адреналовой системы, что подтверждено в работе В. Б. Шатило [20], где по данным изучения вариации сердечного ритма было установлено, что введение адреналина в указанной дозе вызывает более выраженную активацию симпатической системы у людей старше 60 лет. Кроме того, заслуживают внимания данные экспериментальных исследований на животных В. В. Фролькиса [16–18], а также Н. С. Верхратского и В. П. Замостьяна [3, 4], в которых было показано, что с возрастом снижается интенсивность инактивации катехоламинов вследствие ослабления процессов их обратного захвата адренергическими терминалями и связывания белками тканей. Поэтому при эндогенном выбросе катехоламинов или поступлении их извне они более длительно находятся в сфере своего действия, вызывая более продолжительные функциональные и обменные эффекты.

Более выраженные изменения реологических свойств крови у пожилых людей связаны также с тем, что с возрастом отмечается повышенная чувствительность большинства органов и тканей к адреналину [1, 10, 13, 14, 16–18, 26]. Так, в работах по изучению влияния внутрикожного введения адреналина на микрососуды (метод капилляроскопии ногтевого ложа), выполненных в Институте геронтологии, было установлено, что у людей старше 60 лет понижается пороговая чувствительность кожных капилляров к адреналину [13, 14]. Это обуславливает возникновение у пожилых людей более выраженной вазоконстрикции микрососудистого русла и уменьшение количества функционирующих капилляров при введении меньшей дозы адреналина. Кроме того, у людей старшего возраста по сравнению с молодыми резко сокращается латентный период, возрастает скорость развития и общая продолжительность реакции (рисунок).

Эта особенность подтверждается также в исследованиях, выполненных В. П. Чижовой [19]. Используя методику лазерной доплеровской флоуметрии, автором было показано, что с возрастом при внутрикожном введении 0,1 мл раствора адреналина в разведении  $1 \cdot 10^{-6}$  г/мл наблюдается более выраженный, чем у молодых, спазм микрососудов кожи, о чем свидетельствует снижение объемной скорости кровотока кожи (ОСКК). Так, на пике внутрикожного введения адреналина ОСКК у молодых людей составила  $(0,74 \pm 0,07)$  мл/(мин·100 г ткани), а у пожилых людей —  $(0,53 \pm 0,08)$  мл/(мин·100 г ткани) ( $P < 0,05$ ). Кроме того, наблюдалось сокращение латентного периода начала реакции и увеличение времени вазоконстрикции микрососудов. Так, восстановление кровотока кожи к исходному уровню происходило на  $(42,81 \pm 4,06)$  мин у практически здоровых людей в возрасте 20–29 лет и на  $(65,31 \pm 4,98)$  мин у людей пожилого возраста ( $P < 0,05$ ). Приведенные данные свидетельствуют о снижении сосудодвигательной функции эндотелия, что связано с возрастзависимым ухудшением гормонсинтезирующей функции эндотелия. Более того, известно, что адреналин обладает способностью стимулировать действие других индук-



Возрастные изменения латентного периода и длительности реакции кожных капилляров при введении адреналина в область второй фаланги пальца кисти.

торов агрегации в экстремальных либо патологических условиях [2, 21, 25, 29]; поэтому, когда уровень адреналина в крови повышается, этот механизм активации тромбоцитов может становиться существенным фактором, содействующим внутрисосудистой агрегации тромбоцитов. Для людей старше 60 лет указанный механизм особенно важен, поскольку экспрессия рецепторов к адреналину на кровяных пластинках увеличивается [5, 12, 27, 31]. Кроме того, в последние годы показана способность адреналина вызывать мембранную модуляцию — восстанавливать чувствительность мембран тромбоцитов к повторному воздействию агониста [24, 27, 28]. Именно этим свойством можно объяснить частую неэффективность антитромбоцитарной терапии в условиях стрессовых реакций. В этой связи высказанное выше предположение о причинах развития более выраженных изменений реологических свойств крови у людей старшего возраста является обоснованным. Полученные нами данные важны для понимания роли возрастных изменений реологических свойств крови в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, в частности тромбозов при стрессовых воздействиях.

### Литература

1. Безруков В. В. Некоторые особенности реакции сердечно-сосудистой системы животных разного возраста на введение катехоламинов // Лекарственная терапия в пожилом и старческом возрасте. — Киев, 1968. — С. 78–80.
2. Берковский А. Л., Васильев С. А., Жердева Л. В. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов. — М.: Медицина, 2002. — 62 с.
3. Верхратский Н. С. Возрастные особенности чувствительности сосудов к гуморальным факторам // Вопросы геронтологии и гериатрии. — Киев: Ин-т геронтологии АМН СССР, 1962. — Т. 2. — С. 50–55.

4. *Верхратский Н. С., Замостьян В. П.* О возрастных особенностях чувствительности различных сосудистых областей к действию адренергических и холинергических влияний // 8 науч. конф. по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. — М., 1967. — С. 76–78.
5. *Волков Г. Л., Платонова Т. Н., Савчук А. Н. и др.* Современные представления о системе гемостаза. — Киев: Наук. думка, 2005. — 296 с.
6. *Дильман В. Н.* Старение, климакс и рак. — Л.: Медицина, 1968. — 196 с.
7. *Коркушко О. В., Коваленко А. Н.* Система свертывания крови при старении. — Киев: Здоров'я, 1988. — 220 с.
8. *Коркушко О. В., Суханов Ю. К.* Возрастные особенности реактивности симпатoadrenalовой системы // Мат-лы 9 науч. конф. по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. — Т. 2, ч. 2. — М., 1969. — С. 400–402.
9. *Коркушко О. В., Чернецкая Л. А.* Особенности влияния адреналина на систему свертывания крови в пожилом и старческом возрасте // Кардиология. — 1973. — **13**, № 8. — С. 77–82.
10. *Коркушко О. В., Чеботарев Д. Ф., Калиновская Е. Г.* Гериатрия в терапевтической практике. — Киев: Здоров'я, 1993. — 840 с.
11. *Орбели Л. А.* Теория адаптационно-трофического влияния нервной системы // Избранные труды. — Т. 2. — М.: Изд-во АН СССР, 1948. — С. 227–229.
12. *Самаль А. Б., Черенкевич С. Н., Хмара Н. Ф.* Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы. — Минск: Университетское, 1990. — 104 с.
13. *Саркисов К. Г.* Возрастные особенности влияния адреналина и ангиотензина на состояние кожной микроциркуляции // Пробл. старения и долголетия. — 1992. — **2**, № 1. — С. 57–64.
14. *Саркисов К. Г., Коркушко О. В., Ступина А. С. и др.* Микроциркуляция и гемореология при старении человека // Пробл. старения и долголетия. — 1998. — **7**, № 3. — С. 269–273.
15. *Суханов Ю. К.* Особенности реактивности симпатoadrenalовой системы в пожилом и старческом возрасте по данным экскреции катехоламинов мочой: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Днепропетровск, 1989. — 25с.
16. *Фролькис В. В.* Изменения реактивности сосудов при старении // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. — 1991. — № 9. — С. 48–55.
17. *Фролькис В. В.* Регулирование, приспособление и старение. — Л.: Наука, 1970. — 432 с.
18. *Фролькис В. В., Безруков В. В., Кульчицкий О. К.* Старение и экспериментальная возрастная патология сердечно-сосудистой системы. — Киев: Наук. думка, 1994. — 240 с.
19. *Чижова В. П.* Зміни мікроциркуляторної ланки судинного русла та функції ендотелію у хворих на гіпертонічну хворобу похилого та старечого віку під впливом антигіпертензивної терапії (еналаприл, амлодипін, небіволол — довготривалі спостереження): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 2005. — 24 с.
20. *Шатило В. Б.* Клинико-физиологический анализ изменений вегетативной регуляции хронотропной функции сердца при старении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 1989. — 23 с.
21. *Шутикова А. С.* Тромбоцитарный гемостаз. — СПб: ГМУ, 2000. — 227 с.
22. *Brown G. L., Davies B. N., Ferry C. B.* The effects of neuronal rest on the output of sympathetic transmitter from the spleen // J. Physiol. — 1961. — № 159. — P. 365–367.
23. *Cannon W. B.* Stresses and strain of homeostasis // Am. J. Med. Sci. — 1935. — **189**. — P. 1–14.
24. *Diodati J. G., Dakak N., Gilligan D. M. et al.* Effect of atherosclerosis on endothelium-dependent inhibition of platelet activation in humans // Circulation. — 1998. — № 98. — P. 17–24.

25. *Frojmovic M. M., Milton J. G.* Human platelet size, shape and related functions in health and disease // *Physiol. Rev.* — 1982. — **62**. — P. 185–201.
26. *Frolkis V. V., Bezrukov V. V., Kulchitsky O. K.* The aging cardiovascular system. Physiology and pathology. — New York: Springer Publishing Company, Inc., 1996. — 238 p.
27. *Gawaz M. P.* Blood platelets: physiology, pathophysiology, membrane receptors, antiplatelet principles and therapy for atherothrombotic disease. — Stuttgart: Thieme, 2001. — 190 p.
28. *Kulkarni S., Dopheide S. M., Yap C. L. et al.* A revised model of platelet aggregation // *J. Clin. Invest.* — 2000. — **105**, № 6. — P. 783–791.
29. *Savage B., Cattaneo M., Ruggeri Z. M.* Mechanism of platelet aggregation // *Curr. Opin. Hematol.* — 2001. — **8**, № 5. — P. 270–276.
30. *Selye H.* General adaptation syndrome and the disease of adaptation // *J. Clin. Endocr.* — 1946. — **6**. — P. 117–230.
31. *Smith S. K., Limbird L. E.* Solubilization of human platelet  $\alpha$ -adrenogenic receptors: evidence that agonist occupancy of the receptor stabilizes receptor-effector interactions // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1981. — **78**, № 7. — P. 4026–4030.

Поступила 02.11.2009

## CHANGES OF THE BLOOD RHEOLOGICAL PROPERTIES AFTER ADRENALINE INJECTION: AGE PECULIARITIES

**G. V. Duzhak, O. V. Korkushko**

State Institution “D. F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine”,  
04114 Kyiv

The results of investigation of 10 apparently healthy subjects aged 20–29 and 10 elderly persons aged 60–74 showed the intramuscular administration of epinephrine (0.007 mg/1 kg b.w.) to cause an increase in the blood viscosity and in the aggregation activity of erythrocytes and platelets, as well as in the adhesive capacity of the latter. Changes in the rheological properties of blood were more pronounced and more persistent in persons aged over 60. Failure to restore altered rheological parameters to initial level 180 min after epinephrine administration testifies to a decreased capacity of the elderly organism to adapt to stress. The data obtained help understand the role of age related changes in the blood rheological properties in the pathogenesis of cardiovascular diseases, particularly, in that of thromboses in stress.

## ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭМОЦИОГЕННЫХ ЗОН ГИПОТАЛАМУСА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ КРЫС

Ю. Е. Рушкевич, Т. А. Дубилей

Государственное учреждение “Институт геронтологии  
им. акад. Д. Ф. Чеботарева АМН Украины”, 04114 Киев

В рамках поиска возможности увеличения продолжительности жизни (ПЖ) путем воздействия на эмоциогенные зоны гипоталамуса в опытах, проведенных на крысах-самцах линии Вистар в возрасте 20 мес, изучали влияние раздельного и совместного электролитического повреждения вентромедиального ядра (ВМЯ) и латеральной гипоталамической области (ЛГО) гипоталамуса на выживаемость, ПЖ и концентрацию гормонов в плазме крови. Повреждение ВМЯ уменьшало остаточную максимальную ПЖ (ОМПЖ) и не влияло на выживаемость. При этом у крыс обнаружено увеличение массы тела, рост концентрации инсулина и снижение концентрации ТТГ. Повреждение ЛГО снижало выживаемость, не влияя на ОМПЖ, но увеличивая массу тела и рост концентрации АКТГ. Совместное повреждение ВМЯ и ЛГО снижало выживаемость и уменьшало остаточную среднюю ПЖ и ОМПЖ. При этом у животных уменьшалась масса тела, концентрация инсулина, но рос уровень ТТГ. Таким образом, повреждение как ВМЯ, так и ЛГО приводило к снижению жизнеспособности крыс, что, вероятно, было обусловлено развитием эндокринной патологии, соответствующей локализации повреждения.

**Ключевые слова:** вентромедиальное ядро гипоталамуса, латеральная гипоталамическая область, электролитическое повреждение, продолжительность жизни.

Уже около полувека гипоталамус привлекает пристальное внимание геронтологов как объект исследования механизмов старения и возможных путей увеличения продолжительности жизни (ПЖ). Предполагается, что возрастные изменения в этом ключевом звене нейрогуморальной регуляции приводят к старению целостного организма, развитию возрастной патологии и сокращению ПЖ [15–18]. Значительный вклад в изучение гипоталамических механизмов старения и антистарения внесли экспериментальные работы, выполненные под руководством В. В. Фролькиса [7]. В последние годы особое внимание в них уделялось изучению эмоциогенных зон гипоталамуса — вентромедиальному ядру (ВМЯ) и латеральной гипоталамической области (ЛГО) [8]. Подобный интерес представляется вполне закономерным, поскольку, как известно, помимо участия в формировании эмоционального подкрепления, эти структуры выполняют интегрирующую роль в регуляции многих важнейших аспектов жизнедеятельности [6, 14]. В результате проведенных исследований было обнаружено, что в старости в обеих эмоциогенных зонах уменьшается численная плотность нейронов, возникают деструктивные изменения в нервных клетках, снижается их импульсная и суммарная фоновая электрическая активность, нарушается обмен медиаторов, уменьшается интенсивность биосинтетических процессов и ферментативная активность; с возрастом ухудшаются подкрепляющие функции ВМЯ и ЛГО в осуществлении эмоционально-поведенческих реакций — избегания и самораздражения. Также было показано, что хроническая активация эмоциогенных зон путем их электрической стимуляции влияет на выживаемость и ПЖ старых животных — стимуляция ЛГО увеличивает, а стимуляция ВМЯ уменьшает значения этих показателей [1]. Можно предположить, что повреждение эмоциогенных зон и, соответственно, ослабление их функции будет приводить к противоположному эффекту: повреждение ВМЯ — к улучшению, а ЛГО — к ухудшению жизнеспособности животных. Следует отметить, что, несмотря на то, что отдельные симптомы, возникающие при деструкции ВМЯ и ЛГО, достаточно хорошо изучены, влияние этой операции на ПЖ до настоящего времени не исследовалось. Ряд авторов высказывали предположение о том, что повреждение ВМЯ, сопровождающееся гиперфагией и ожирением, должно сокращать ПЖ, тогда как повреждение ЛГО, вызывающее гипофагию и уменьшение массы тела, может, подобно калорийно ограниченному рациону, способствовать ее пролонгированию [12, 18].

Для проверки существующих предположений нами было проведено данное исследование, цель которого состояла в изучении влияния электролитического повреждения ВМЯ и ЛГО на жизнеспособность старых крыс.

**Материал и методы.** Опыты проведены на 64-х 20-месячных самцах крыс линии Вистар, подразделенных на 4 группы: повреждение ВМЯ, повреждение ЛГО, повреждение обеих структур и контроль (ложная операция). Билатеральное электролитическое повреждение структур гипота-

ламуса осуществляли под нембуталовым наркозом (40 мг/кг массы тела, внутривенно) пропусканием в течение 20 с постоянного анодного тока силой 1 мА (для ВМЯ) либо 0,5 мА (для ЛГО). Стереотаксические координаты для ВМЯ:  $A = -2,6$ ,  $L = 0,5$ ,  $H = 9,6$ ; для ЛГО — соответственно,  $-4,2$ ,  $1,6$  и  $8,8$  [23]. Концентрацию АКТГ, ТТГ и инсулина определяли с помощью коммерческих радиоиммунологических наборов в плазме крови, взятой из кончика хвоста под легким эфирным наркозом через 100 сут после операции. В каждой группе крыс определяли остаточную среднюю ПЖ (ОСПЖ) и остаточную максимальную ПЖ (ОМПЖ). Последнюю вычисляли как ОСПЖ 20 % наиболее долгоживущих особей в группе.

Статистическую значимость различий оценивали при помощи  $t$ -критерия Стьюдента. Для сравнения кривых выживаемости использовали критерий Гехана — Бреслоу [5].

**Результаты и их обсуждение.** Повреждение ВМЯ и ЛГО ухудшало жизнеспособность старых крыс, по-разному влияя на различные характеристики ПЖ (рис. 1, табл. 1). Так, повреждение ВМЯ уменьшало ОМПЖ на 13 %, практически не изменяя ОСПЖ и выживаемость. Повреждение ЛГО приводило к снижению выживаемости ( $\chi^2 = 4,71$ ,  $P < 0,05$ ), не оказывая статистически значимого влияния на ОСПЖ и ОМПЖ. Совместное повреждение ВМЯ и ЛГО вызывало снижение выживаемости ( $\chi^2 = 5,75$ ,  $P < 0,05$ ), а также сокращение как ОСПЖ (на 35 %), так и ОМПЖ (на 16 %).

Повреждения ВМЯ и ЛГО сопровождалось выраженными нарушениями возрастной динамики массы тела крыс (рис. 2). Так, в группе контрольных животных, начиная с 30-х и до 270-х сут наблюдения, отмечался прирост массы тела, причем эти изменения положительно коррелировали с ПЖ (табл. 2). Повреждение ВМЯ сопровождалось избыточным по сравнению с контролем приростом массы тела. В этой группе животных также отмечена положительная корреляция между изменениями массы тела и ПЖ. Повреждение ЛГО приводило к уменьшению массы тела с последующим ее увеличением, превышающим контрольные значения. Совместное повреждение ВМЯ и ЛГО, напротив, в ранние сроки после операции вызывало увеличение массы тела, которое в дальнейшем сменялось ее уменьшением. В двух последних группах корреляция между изменениями массы тела и ПЖ крыс отсутствовала.

В результате повреждения ВМЯ и ЛГО у крыс возникали существенные эндокринные нарушения. Так, на 100-е сут после операции у животных с повреждением ВМЯ было обнаружено увеличение концентрации инсулина и снижение уровня ТТГ, у крыс с повреждением ЛГО — увеличение концентрации АКТГ, а у животных с повреждением обеих структур — уменьшение концентрации инсулина и повышение уровня ТТГ (табл. 3). При этом у крыс с повреждением ВМЯ и обеих структур имела место положительная корреляция между ПЖ и концентрацией инсулина, а у животных с повреждением ЛГО — отрицательная корреляция между ПЖ и концентрацией ТТГ (табл. 4).

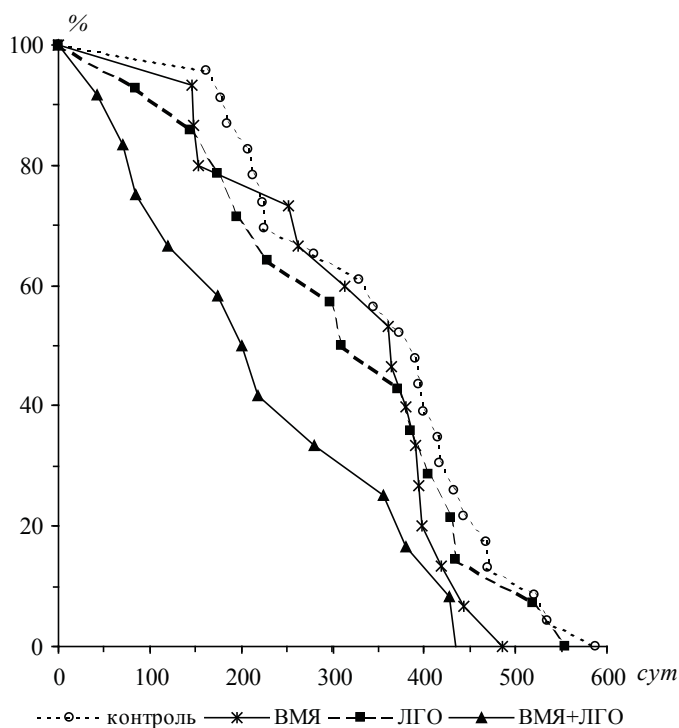


Рис. 1. Влияние повреждения эмоциогенных зон гипоталамуса на выживаемость крыс.

В группах крыс с низкой (ниже ОСПЖ) и высокой (соответствующей ОМПЖ) индивидуальной ПЖ изменения массы тела и значений эндокринных показателей имели определенные особенности (табл. 5). Так, на 100-е сут наблюдения долгоживущие крысы контрольной группы отличались от короткоживущих достоверным увеличением массы тела и более высокой концентрацией ТТГ. При повреждении ВМЯ долгоживущие крысы имели более значительный по сравнению с короткоживущими прирост массы тела и более выраженную гиперинсулинемию. У долгоживущих

Таблица 1

Влияние повреждения эмоциогенных зон гипоталамуса на значения показателей остаточной продолжительности жизни крыс, сут

Показатель	Контроль	ВМЯ	ЛГО	ВМЯ + ЛГО
ОСПЖ	356 ± 26 (23)	327 ± 29 (15)	324 ± 38 (14)	232 ± 41* (12)
ОМПЖ	516 ± 22 (5)	449 ± 20* (3)	503 ± 36 (3)	431 ± 3* (2)

Примечания (здесь и в табл. 3): \* —  $P < 0,05$  по сравнению с контролем, в скобках — количество животных.



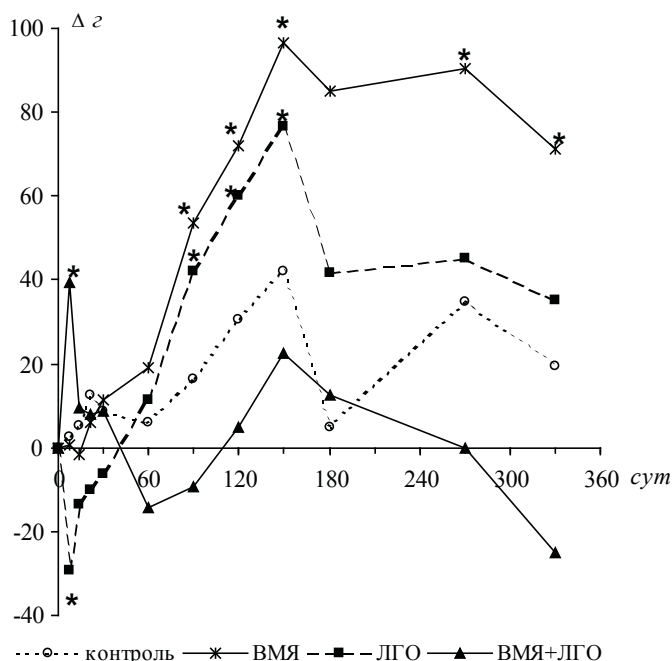


Рис. 2. Влияние повреждения эмоциональных зон гипоталамуса на возрастную динамику массы тела крыс; \* —  $P < 0,05$  по сравнению с контролем.

животных с повреждением ЛГО и обеих структур в отличие от короткоживущих крыс отсутствовали существенные отклонения массы тела и значений эндокринных показателей от контроля.

Увеличение массы тела по мере старения характерно для самцов лабораторных крыс. Обнаруженная нами положительная корреляция между приростом массы тела и ПЖ, а также достоверное увеличение массы тела у долгоживущих контрольных крыс в отличие от короткоживущих свидетельствуют о высокой жизнеспособности набирающих вес стареющих животных. Более высокая концентрация ТТГ в крови долгоживущих контрольных крыс по сравнению с коротко живущими, вероятно, отражает усиление функции гипофиза, направленное на поддержание слабеющей с возрастом функции щитовидной железы, и также может служить показателем благоприятного течения процесса старения. Судя по недавно опубликованным результатам эпидемиологических исследований, тесная связь между высоким уровнем ТТГ и долгожительством прослеживается и в человеческой популяции [13].

Прирост массы тела у животных с повреждением ВМЯ оказался больше, чем в контрольной группе. И хотя величина этого прироста так же, как и в контроле, положительно коррелировала с ПЖ, максимальная ПЖ крыс

Таблица 2

**Корреляция между изменениями массы тела и продолжительностью жизни крыс при повреждении эмоциогенных зон гипоталамуса**

Время после операции, сут	Контроль	ВМЯ	ЛГО	ВМЯ + ЛГО
7	0,27	0,09	-0,47	-0,05
30	0,36	-0,15	-0,34	0,29
60	0,73*	-0,07	-0,07	0,14
90	0,64*	0,38	0,09	0,49
120	0,71*	0,78*	0,27	0,40
150	0,66*	0,76*	-0,10	0,38

Примечания (здесь и в табл. 4): \* — достоверность коэффициента корреляции  $<0,05$ ;  $n \geq 10$ .

сокращалась. Некоторыми авторами прогнозировались неблагоприятные для жизнеспособности животных последствия повреждения ВМЯ [12, 18]. Показано, что в результате такой операции развиваются гиперфагия, ожирение [21], а также гиперфункция поджелудочной железы, усиление секреции инсулина с последующими деструктивными изменениями островкового аппарата и развитием диабета преимущественно у старых животных [1, 22]. Известно также, что осложнениями диабета являются кардиомиопатия и ангиопатии. Показано, что ожирение и хроническая гиперинсулинемия способствуют развитию процесса воспаления сосудистого эндотелия и нарушению его функций [19]. Повышение концентрации инсулина в крови и увеличение массы тела вследствие повреждения ВМЯ, зарегистрированные в наших экспериментах, были наиболее выраженными у долгоживущих крыс. Можно предположить, что именно у этих животных итогом повреждения ВМЯ было постепенное развитие диабета и формирование его осложнений в относительно поздние сроки наблюдения, т. е. в возрасте более 30 мес, что и обусловило уменьшение их ПЖ. Ранее нами было показано, что развитию диабета у старых животных сопутствуют признаки воспаления в сосудистой стенке, нарушение процесса эндотелийзависимого расслабления сосудов, а также нарушения сократительной функ-

Таблица 3

**Концентрация гормонов в плазме крови крыс через 100 сут после повреждения эмоциогенных зон гипоталамуса**

Показатель	Контроль	ВМЯ	ЛГО	ВМЯ + ЛГО
АКТГ, нг/мл	256,3 ± 13,0 (27)	251,9 ± 14,3 (15)	305,9 ± 20,2* (12)	249,8 ± 28,1 (9)
ТТГ, нг/мл	1,33 ± 0,10 (26)	0,96 ± 0,08* (13)	1,25 ± 0,13 (10)	1,80 ± 0,19* (7)
Инсулин, мкЕд/мл	27,8 ± 2,5 (26)	56,1 ± 6,3* (15)	25,0 ± 4,0 (11)	18,5 ± 3,6* (7)

Таблица 4

**Корреляция между концентрацией гормонов в плазме крови и продолжительностью жизни крыс через 100 сут после повреждения эмоциональных зон гипоталамуса**

Гормон	Контроль	ВМЯ	ЛГО	ВМЯ + ЛГО
АКТГ	-0,30	-0,14	-0,08	0,26
ТТГ	0,33	-0,10	-0,64*	0,16
Инсулин	0,14	0,79*	0,14	0,70*

ции сердца [3, 4]. Уменьшению максимальной ПЖ животных с повреждением ВМЯ мог также способствовать гипотиреоз, обусловленный ослаблением синтеза ТТГ. Известно, что ослабление тиреотропной функции гипофиза и связанная с этим гиподисфункция щитовидной железы характерны как для повреждения ВМЯ, так и для процесса старения [9, 11]. Поэтому у постаревших крыс с повреждением ВМЯ в более полной мере могли проявиться такие неблагоприятные для жизнедеятельности последствия гиподисфункции щитовидной железы, как снижение интенсивности

Таблица 5

**Изменения массы тела и концентрация гормонов в плазме крови крыс с разной продолжительностью жизни через 100 сут после повреждения эмоциональных зон гипоталамуса**

Показатель	Контроль	ВМЯ	ЛГО	ВМЯ + ЛГО
Короткоживущие				
Масса тела, Δg	9,5 ± 7,6 (10)	23,0 ± 8,2 <sup>α</sup> (5)	49,0 ± 8,2* <sup>α</sup> (5)	-35,0 ± 13,2* <sup>α</sup> (3)
ТТГ, нг/мл	266,6 ± 19,8 (11)	253,8 ± 14,0 (6)	360,3 ± 30,1* (7)	238,0 ± 47,1 (5)
ТТГ, нг/мл	1,21 ± 0,08 (11)	1,03 ± 0,14 (5)	1,53 ± 0,20 (4)	1,70 ± 0,24* (4)
Инсулин, мкЕд/мл	24,7 ± 2,9 (11)	40,3 ± 6,0* (6)	13,8 ± 1,9* (3)	13,4 ± 4,1* (4)
Долгоживущие				
Масса тела, Δg	45,4 ± 7,1* <sup>α</sup> (6)	103,1 ± 24,7* <sup>α</sup> (4)	26,9 ± 30,7 (4)	22,5 ± 24,6 (3)
ТТГ, нг/мл	245,2 ± 19,1 (5)	244,8 ± 36,7 (4)	288,5 ± 21,3 (4)	257,7 ± 41,3 (3)
ТТГ, нг/мл	1,70 ± 0,23 <sup>#</sup> (4)	1,04 ± 0,13* (4)	1,15 ± 0,17 (4)	1,60 ± 0,01 (2)
Инсулин, мкЕд/мл	30,4 ± 9,5 (56)	85,4 ± 11,3* <sup>#</sup> (4)	24,4 ± 5,8 (4)	25,3 ± 4,0 (3)

*Примечания:* \* —  $P < 0,05$  по сравнению с контролем, # —  $P < 0,05$  по сравнению с короткоживущими; <sup>α</sup> — достоверность сдвига массы тела  $< 0,05$ ; в скобках — количество животных.

тканевого дыхания и биосинтеза белка. Что касается остальных крыс с повреждением ВМЯ (в том числе коротко живущих), то их жизнеспособность существенно не отличалась от контроля, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий выживаемости. Следует отметить, что прирост массы тела и концентрация инсулина в крови короткоживущих животных с повреждением ВМЯ были выше контрольных значений, но ниже, чем у долгоживущих крыс. Последнее обстоятельство могло быть обусловлено большей интенсивностью процесса старения у короткоживущих животных по сравнению с долгоживущими. Как известно по мере старения крыс ослабевают прирост массы тела и гиперинсулинемия, вызванные повреждением ВМЯ [2].

В отличие от ВМЯ повреждение ЛГО у крыс привело к снижению выживаемости без уменьшения ОМПЖ. Как известно, обширное повреждение ЛГО вызывает временную акинезию, адипсию, афагию (и, соответственно, уменьшение массы тела) и при отсутствии надлежащего ухода приводит к гибели животных. В наших экспериментах повреждение ЛГО, производимое относительно слабым по величине током, не имело столь драматических последствий. Относительно кратковременное уменьшение массы тела сменилось увеличением, превосходящим контрольные значения. Следует отметить, что увеличение массы тела, а также значительное увеличение концентрации АКТГ в крови при сниженной концентрации инсулина были обнаружены только у короткоживущих крыс с повреждением ЛГО. Снижение концентрации инсулина у таких животных могло быть следствием ослабления парасимпатических влияний со стороны поврежденной ЛГО, а также усиления симпатической активности со стороны ВМЯ [20, 26]. Факт увеличения массы тела на фоне повышения концентрации АКТГ позволяет предположить наличие ожирения, характерного для синдрома Кушинга, воспроизводимого у животных, а также для метаболического синдрома, характеризующегося ожирением, которое обусловлено гиперсекрецией глюкокортикоидов [24, 25].

Совместное повреждение ВМЯ и ЛГО оказалось наиболее неблагоприятным. После такой операции у крыс снижались не только выживаемость и ОМПЖ, но также ОСПЖ. Снижение концентрации инсулина в крови, зарегистрированное у короткоживущих животных, вероятно, стало следствием ослабления парасимпатических влияний в результате повреждения ЛГО [26]. Рост концентрации ТТГ у этих же крыс по сравнению с контролем мог быть обусловлен характерным для повреждения ВМЯ и ЛГО ослаблением секреторной функции щитовидной железы [12]. Аналогичные гормональные изменения у долгоживущих животных с совместным повреждением отсутствовали, и это позволяет предположить, что нарушения функций поджелудочной и щитовидной желез неблагоприятно повлияли на жизнеспособность и ускорили летальность. Однако следует подчеркнуть, что максимальная ПЖ крыс с совместным повреждением ВМЯ и ЛГО оказалась намного меньше контрольной, и это

свидетельствует о наличии иных факторов, способствующих сокращению ПЖ при таком типе воздействия.

Таким образом, результаты наших экспериментов подтвердили предположения об уменьшении жизнеспособности животных в результате повреждения ВМЯ или ЛГО, однако опровергли возможность увеличения жизнеспособности таким способом. Уменьшение ОМПЖ крыс с повреждением ВМЯ, вероятно, было следствием медленно формировавшихся и проявившихся в старости эндокринных расстройств — гиперфункции и последующего истощения панкреатического островкового аппарата, а также ослабления функции щитовидной железы. Уменьшение выживаемости животных с повреждением ЛГО могло быть обусловлено развитием иной эндокринной патологии, отличающейся высокой концентрацией АКТГ в крови и ожирением при низкой концентрации инсулина.

Изменения, происходящие в организме животного в результате повреждения ВМЯ или ЛГО, естественно, не ограничиваются сдвигами, представленными в настоящей работе, в силу широкого спектра влияний каждой из структур на различные проявления жизнедеятельности. Эти влияния могут быть противоположно направленными, и тогда их ослабление в результате повреждения одной из эмоциогенных зон проявляется в смещении баланса влияний в пользу уцелевшей структуры и в развитии характерной симптоматики (например, гипер- или гипоинсулинемии при повреждении, соответственно, ВМЯ или ЛГО). Вместе с тем, влияния ВМЯ и ЛГО могут иметь одинаковую направленность, о чем свидетельствуют данные экспериментов с повреждением или хронической стимуляцией. Так, например, повреждение каждой из этих структур вызывает ослабление секреции тироксина, снижение локомоторной активности и усиление секреции желудочного сока [12]. Стимуляция как ВМЯ, так и ЛГО у старых крыс способствует повышению в крови концентрации кортикостерона, тироксина и тестостерона, увеличению массы тимуса и количества телец Гассала и улучшению сохранения условного рефлексивного избегания [1]. Следовательно, ВМЯ и ЛГО не являются жесткими антагонистами и по некоторым (а возможно, и по очень многим) направлениям действуют синергично. Именно такие направления функциональной деятельности эмоциогенных зон могут оказаться наиболее уязвимыми при их совместном повреждении, что в наших экспериментах привело к наиболее тяжелым последствиям, проявившимся в резком уменьшении жизнеспособности.

Сравнительная характеристика результатов как повреждения, так и стимуляции ВМЯ и ЛГО свидетельствует о том, что взаимосвязи этих эмоциогенных зон не сводятся исключительно к реципрокным, но являются сложным паттерном организации регуляторных влияний в рамках единого морфофункционального комплекса. Это следует учитывать при экспериментальном поиске возможностей продления жизни путем воздействия на ВМЯ и ЛГО. По-видимому, методом повреждения эмоциогенных зон

добиться увеличения ПЖ нельзя. Этому препятствует постепенный процесс старения обеих структур, сопровождающийся ухудшением их функционирования [2], причем этот процесс гетерохронный, в силу чего паттерн взаимосвязей эмоциогенных зон друг с другом, а также с иными структурами ЦНС постоянно меняется. При таких обстоятельствах эффективным методом представляется не стационарное усугубление функционального дефицита структуры методом повреждения, а мягкая обратимая коррекция функции. При этом важно, чтобы в результате такого воздействия улучшалось функциональное состояние другой структуры, а также сохранялся баланс взаимосвязей ЛГО и ВМЯ. Наши исследования, проведенные на старых 29-месячных крысах, показали эффективность хронической и относительно слабой по силе электрического воздействия стимуляции ЛГО как способа повышения выживаемости и увеличения ПЖ [10]. При такой стимуляции обнаруживались признаки улучшения функционального состояния как ЛГО, так и ВМЯ [1].

### Литература

1. *Безруков В. В., Дубилей Т. А., Рушкевич Ю. Е.* Роль эмоциогенных зон гипоталамуса в геронтогенезе // Пробл. старения и долголетия. — 2008. — 17, № 2. — С. 115–128.
2. *Безруков В. В., Рушкевич Ю. Е., Дубилей Т. А., Михальский С. А.* Изменения эмоциогенных зон гипоталамуса и особенности развития некоторых форм экспериментальной патологии у старых крыс // Архив клин. и эксперим. мед. — 2002. — 11, № 1. — С. 86–91.
3. *Дубилей Т. А., Бадова Т. А., Мигован С. А., Рушкевич Ю. Е.* Влияние ишемии/реперфузии на функцию изолированного сердца у крыс разного возраста со стрептозотоциновым диабетом // Пробл. старения и долголетия. — 2007. — 16, № 1. — С. 11–20.
4. *Дубилей Т. А., Паршиков А. В., Рушкевич Ю. Е.* и др. Возрастные особенности влияния бактериального липополисахарида на реактивность изолированной сосудистой полоски и экспрессию генов маркеров воспаления у мышей со стрептозотоциновым диабетом // Пробл. старения и долголетия. — 2009. — 18, № 2. — С. 174–185.
5. *Ермаков С. П., Гаврилова Н. С.* Первичная статистическая обработка данных по выживаемости организмов // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Общие проблемы биологии. — 1987. — 6. — С. 230–276.
6. *Макаренко Ю. А.* Системная организация эмоционального поведения. — М.: Медицина, 1980. — 208 с.
7. *Старение мозга* / Под общ. ред. В. В. Фролькиса. — Л.: Наука, 1991. — 277 с.
8. *Фролькис В. В.* Геронтология: прогнозы и гипотезы // Журн. АМН Украины. — 1998. — 4, № 3. — С. 434–448.
9. *Фролькис В. В., Мурадян Х. К.* Экспериментальные пути продления жизни. — Л.: Наука, 1988. — 248 с.
10. *Фролькис В. В., Рушкевич Ю. Е., Дубилей Т. А. и др.* Латеральная гипоталамическая область: особенности старения и влияние хронической электростимуляции на продолжительность жизни старых крыс // Нейрофизиология/Neurophysiology. — 2000. — 32, № 4. — С. 314–321.
11. *Эпштейн Е. В., Безруков В. В.* Эндокринные изменения при экспериментальном гипоталамическом ожирении у крыс // Пробл. эндокринологии. — 1978. — 24, № 1. — С. 55–60.

12. *Almli C. R.* Aging and hypothalamic regulation of metabolic, autonomic, and endocrine function // Aging and recovery of function in the central nervous system / Ed. S. W. Scheff. — NY: Plenum Press, 1984. — P. 23–42.
13. *Atzmon G., Barzilai N., Hollowell J. G. et al.* Extreme longevity is associated with increased serum thyrotropin // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2009. — **94**, № 4. — P. 1251–1254.
14. *Bernardis L. L., Bellinger L. L.* The lateral hypothalamic area revisited: neuroanatomy, body weight regulation, neuroendocrinology and metabolism // Neurosci. Biobehav. Rev. — 1993. — **17**, № 2. — P. 141–193.
15. *Dilman V. M.* The hypothalamic control of aging and age-associated pathology: the elevation mechanism of aging // Hypothalamus, pituitary and aging / Ed. Ch. C. Thomas. — Illinois: Springfield, 1976. — P. 634–667.
16. *Everitt A. V.* The neuroendocrine system and aging // Gerontology. — 1980. — **26**, № 2. — P. 108–119.
17. *Frolkis V. V.* The hypothalamic mechanisms of aging // Hypothalamus, pituitary and aging / Ed. Ch. C. Thomas. — Illinois: Springfield, 1976. — P. 614–633.
18. *Groen J. J.* General physiology of aging // Geriatrics. — 1959. — **14**. — P. 318–331.
19. *Hartge M. M., Unger T., Kintscher U.* The endothelium and vascular inflammation in diabetes // Diabetes. Vasc. Dis. Res. — 2007. — **4**, № 2. — P. 84–88.
20. *Kiba T.* Relationships between the autonomic nervous system and the pancreas including regulation of regeneration and apoptosis: recent developments // Pancreas. — 2004. — **29**, № 2. — P. 51–58.
21. *King D. M.* The rise, fall, and resurrection of the ventromedial hypothalamus in the regulation of feeding behavior and body weight // Physiol. Behav. — 2006. — **87**, № 2. — P. 221–244.
22. *Lazaris J. A., Goldderg R. S., Kozlov M. P.* Studies on diabetes mellitus after ventromedial hypothalamic lesions in adult and aged rats // Endocr. Experiment. — 1985. — **19**, № 2. — P. 67–76.
23. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. — NY: Acad. Press, 1983.
24. *Perelley M., Moreno G., Gaillard R. C., Spinedi E.* Glucocorticoid-dependency of increased adiposity in a model of hypothalamic obesity // Neuroendocrinol Lett. — 2004. — **25**, № 1–2. — P. 119–126.
25. *Stenzel-Poore M. P., Cameron V. A., Vaughan J., Sawchenko P. E.* Development of Cushing's syndrome in corticotrophin-releasing factor transgenic mice // Endocrinology. — 1992. — **130**, № 6. — P. 3378–3386.
26. *Yoshimatsu H., Nijima A., Oomura Y. et al.* Effects of hypothalamic lesion on pancreatic autonomic nerve activity in the rat // Brain Res. — 1984. — **303**, № 1. — P. 147–152.

Поступила 29.10.2009

## LESION OF EMOTIOGENIC ZONES OF HYPOTHALAMUS AND LIFESPAN OF RATS

**Yu. E. Rushkevich, T. A. Dubilei**

State Institution "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine",  
04114 Kyiv

Experiments on male Wistar rats aged 20 months were made to find opportunities for lifespan (LS) prolongation. In particular, the effects of separate and combined electrolytic damage of ventromedial nucleus (VMN) and lateral area of hypothalamus (LAH) upon survival rate, LS, and concentration of blood plasma hormones were studied following stimulation of emotiogenic zones of hypothalamus. Damage of VMN decreased the residual maximal LS (RMLS) and had no effect on the survival rate. The body weight of rats and insulin concentration increased and the concentration of TTH decreased. The damage of LAH decreased the survival rate and had no effect on RMLS, while increasing the body weight and ACTH concentration. Combined lesion of VMN and LAH decreased the survival rate, residual average LS and RMLS alongside with the decrease of body weight and insulin concentration, while the level of TTH increased. Present results demonstrate that the lesion of both VMN and LAH resulted in the decrease of viability of rats, which is thought to be conditioned by a development of endocrine pathology, which corresponded to a localization of lesion.



# ГЕРИАТРИЯ

“Пробл. старения и долголетия”, 2009, 18, № 4 — С. 393–402

УДК 616.153.915-053.9:612.349.8

## РОЛЬ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В РАЗВИТИИ ДИСЛИПИДЕМИИ У ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

**О. В. Коркушко, В. Б. Шатило, В. П. Чижова,  
В. А. Ищук**

Государственное учреждение “Институт геронтологии  
им. акад. Д. Ф. Чеботарева АМН Украины”, 04114 Киев

При обследовании 34 лиц разного возраста (15 чел. — 20–39 лет, 19 чел. — 60–74 лет) у 5 (25 %) пожилых людей отмечено нарушение толерантности к углеводам, а у 11 (75 %) молодых людей (из которых у 5 чел. индекс массы тела  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>) коэффициент инсулинорезистентности (ИР) был  $\geq 2$ , 77. У молодых людей не выявлено случаев ИР, хотя она наблюдалась у половины лиц пожилого возраста с более значимыми изменениями липидного состава крови. По сравнению с пожилыми людьми без признаков ИР у них отмечены более высокие уровни общего холестерина (ХС), триглицеридов, ХС липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Показано, что ИР ассоциируется с возрастом, с увеличением индекса массы тела, окружности талии и бедер, а также с повышением уровней общего ХС, ХС липопротеинов низкой плотности и триглицеридов сыворотки крови.

**Ключевые слова:** метаболический синдром, инсулинорезистентность, гиперинсулинемия, дислипидемия, ожирение, пожилой возраст.

© О. В. Коркушко, В. Б. Шатило, В. П. Чижова (valentimes@mail.ru), В. А. Ищук, 2009.

393

В последние годы растет актуальность изучения механизмов развития метаболического синдрома [7, 9, 24], основным компонентом которого является сахарный диабет (СД). Количество больных СД ежегодно увеличивается на 5–7 % и каждые 15 лет удваивается. Эта тенденция особенно четко прослеживается у лиц пожилого возраста. По прогнозам экспертов ВОЗ, количество больных СД к 2025 г. достигнет 325 млн. чел., а у 410 млн. людей будет определяться нарушенная толерантность к глюкозе.

Известно, что в основе развития СД лежат инсулинорезистентность (ИР) и нарушение функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [1]. Относительно длительное время ИР компенсируется гиперинсулинемией, в результате чего значения показателей углеводного обмена остаются в пределах нормы. Однако по мере нарастания ИР увеличивается нагрузка на  $\beta$ -клетки, что приводит к постепенному истощению их инсулинсекреторной способности. При этом в первую очередь страдает быстрая фаза секреции инсулина в ответ на глюкозную нагрузку, что проявляется в нарушенной толерантности к углеводам. Механизмы, лежащие в основе ИР, также включают в себя нарушение функции инсулиновых рецепторов (нарушение пострецепторного сигнального пути). Существует мнение, что накопление свободных жирных кислот (СЖК) может играть в этом ключевую роль [16]. Процессы липолиза усиливаются, когда в плазме крови отмечается низкий уровень инсулина либо снижена чувствительность к нему адипоцитов. СЖК могут подвергаться окислению, образуя аденозина трифосфат в тканях, либо реэстерифицироваться в триглицериды в печени. При ИР нарушаются процессы окисления жиров, поэтому избыток СЖК транспортируется в печень, где провоцирует развитие стеатогепатита и усиливает синтез липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Подобным образом СЖК поступают в скелетные мышцы, увеличивая накопление жира миоцитами, способствуют развитию ИР и нарушению утилизации глюкозы мышцами [11]. Постоянное повышение уровня СЖК в плазме крови способствует аккумуляции липидов в островках поджелудочной железы, оказывая липотоксическое влияние на  $\beta$ -клетки и нарушая их функцию, замыкая таким образом “порочный круг” [22].

Данные изменения являются одними из ведущих и независимых факторов развития кардиоваскулярных осложнений. Так, завершенное в Великобритании исследование *UKPDS* [21], которое включало в себя более 5 тыс. пациентов (наблюдались в среднем в течение 7–9 лет) с впервые выявленным СД без поражения сердца или сосудов, показало, что увеличение содержания холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) на 1 ммоль/л увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний на 57 %, а его уменьшение на 1 ммоль/л способствует снижению риска на 36 %; снижение содержания ХС липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) на 0,1 ммоль/л ведет к возрастанию риска кардиоваскулярных осложнений на 15 %, а повышение уровня гликозилированного гемогло-

бина на 1 % приводит к увеличению смертности от сердечно-сосудистых заболеваний на 11 %.

Учитывая уже имеющиеся доказательства связи между ИР и нарушениями липидного обмена, целью нашего исследования было выявление предпосылок развития нарушений метаболизма при сохраненной и нарушенной толерантности к углеводам у людей пожилого возраста.

**Обследуемые и методы.** Исходя из проведенных клинико-инструментальных исследований и в соответствии с разработанными в Институте геронтологии нормативами, были сформированы группы людей разного возраста: 19 чел. в возрасте 60–74 лет и 15 чел. 20–39 лет. Всеми обследуемыми было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

Велоэргометрию (ВЭМ) проводили по стандартной методике, что позволило исключить у обследуемых ишемическую болезнь сердца (ИБС). Были проведены также антропометрические измерения (массы тела, роста), рассчитывали индекс массы тела (ИМТ). По классификации ВОЗ, избыточную массу тела выявляли когда  $\text{ИМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ , ожирение — когда  $\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$ , а состояние, предшествующее ожирению, — когда  $\text{ИМТ} = 25,0\text{--}29,9 \text{ кг/м}^2$  [14].

Массу тела определяли с точностью до 0,1 кг, рост измеряли с точностью до 0,5 см. Измеряли также окружность талии (ОТ) и бедер (ОБ), рассчитывали их соотношение. По рекомендациям ВОЗ 1998 г.,  $\text{ОТ/ОБ} > 0,9$  у мужчин и  $> 0,85$  у женщин является признаком абдоминального ожирения.

Мы руководствовались критериями метаболического синдрома *The National cholesterol education program's Adult Treatment Panel III* [6, 10], которые включают в себя абдоминальный тип ожирения, выраженный как  $\text{ОТ} > 102 \text{ см}$  для мужчин,  $> 88 \text{ см}$  для женщин; уровень  $\text{TГ} \geq 1,7 \text{ ммоль/л}$ , уровень  $\text{ХС ЛПВП} < 1,03 \text{ ммоль/л}$  для мужчин и  $< 1,29 \text{ ммоль/л}$  для женщин, уровень глюкозы в плазме крови натощак  $\geq 6,1 \text{ ммоль/л}$ . Мы ориентировались именно на эти критерии, т. к. они входят в действующие на данный момент рекомендации Украинской ассоциации кардиологов [3].

Забор венозной крови проводили утром натощак после 10–14 ч ночного голодания и 20–30 мин отдыха. В плазме крови определяли тощаковые уровни глюкозы и инсулина.

Глюкозо-толерантный тест (ГТТ) проводили на фоне не менее 3-суточной обычной (больничной) диеты (с содержанием углеводов около 250–300 г, но не менее 150 г) и обычной физической активности [20]. После первого взятия крови из вены обследуемый принимал внутрь 75 г глюкозы, растворенной в 250 мл воды в течение 5 мин. После приема глюкозы определяли уровни инсулина и глюкозы на 60-й и 120-й мин теста, так как эти периоды наиболее показательны для характеристики функционального состояния инсулярного аппарата поджелудочной железы. Во время проведения ГТТ курение исключалось. Толерантность к глюкозе считали нормальной, если ее уровень в плазме венозной крови натощак

был меньше 6,1 ммоль/л, а через 2 ч после нагрузки глюкозой — меньше 7,8 ммоль/л. Если уровень глюкозы натощак был меньше 6,1 ммоль/л, но через 2 ч находился в пределах 7,8–11,1 ммоль/л, то это состояние классифицировали как нарушение толерантности к глюкозе независимо от возраста обследованных, что в дальнейшем позволило подразделить обследованных людей на две группы: с сохраненной и нарушенной толерантностью к углеводам [17].

Степень выраженности ИР определяли по ее индексу, или коэффициенту ИР *НОМА-IR*:

$$\text{НОМА-IR} = (\text{глюкоза натощак, ммоль/л} \times \text{инсулин натощак, мкЕд/мл}) / 22,5.$$

ИР диагностировали при значении  $\text{НОМА-IR} \geq 2,77$  [12, 15, 23].

Для оценки нарушений липидного обмена определяли уровни общего ХС, ХС ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП, триглицеридов в сыворотке крови, а также индекс атерогенности.

Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента для независимых выборок.

**Результаты и их обсуждение.** При измерении антропометрических показателей установлено, что с возрастом увеличиваются масса тела, ОТ и ОБ. ИМТ достоверно увеличивается у лиц пожилого возраста. Так, если у молодых людей он составлял  $22,4 \pm 0,9$ , то у лиц старше 60 лет —  $28,9 \pm 0,9$  ( $P < 0,05$ ).

У 11 (57 %) пожилых людей *НОМА-IR* был достоверно выше 2,77, что свидетельствует о наличии у них ИР. После проведения ГТТ через 2 ч уровень глюкозы выше 7,8 ммоль/л был отмечен у 5 (25 %) пожилых людей, что оценивали как нарушение толерантности к углеводам. У лиц молодого возраста не было выявлено нарушенной толерантности к углеводам или с признаками ИР.

Известно, что у пожилых и старых людей снижение толерантности к углеводам является одной из причин, определяющих гиперлипемическую направленность липидного обмена [4, 5]. При этом в первую очередь страдает функция быстрой секреции инсулина в ответ на пищевую нагрузку. Недостаточность этой фазы секреции инсулина проявляется в развитии постпрандиальной гипергликемии, что характерно для нарушенной толерантности к глюкозе, а также в снижении чувствительности к инсулину, что приводит к нарушению поступления и утилизации глюкозы в мышечной ткани и развитию резистентности к антилиполитическому действию инсулина в жировой ткани. Активация липолиза в висцеральных адипоцитах приводит к освобождению большого количества СЖК, которые, с одной стороны, оказывают “липотоксическое” влияние, а с другой — являются субстратом для формирования атерогенной фракции ХС — ЛПНП. Одновременно с этим снижается концентрация ЛПВП. Эти изменения лежат в основе прогрессирования атеросклероза у людей пожилого и стар-

ческого возраста. В то же время, возникающая для преодоления порога сниженной чувствительности к инсулину гиперинсулинемия стимулирует атеросклеротические и пролиферативные изменения посредством воздействия на рецепторы к инсулиноподобному фактору роста 1.

В ранее проведенных нами исследованиях [2, 4, 5] было показано, что с возрастом концентрация глюкозы в крови имеет тенденцию к увеличению, но она сохраняется в пределах физиологической нормы. При проведении теста на толерантность к глюкозе у пожилых и старых людей ее максимальная концентрация достигалась на 60-й мин, в то время как у молодых — на 30-й мин. Восстановление гликемии к исходному уровню у пожилых и старых людей было замедленным. При этом нормализация уровня глюкозы в крови после ее приема происходила на фоне более высокой гипергликемии на протяжении 1,5 ч у пожилых и 2 ч у старых людей. Обращает внимание и тот факт, что у пожилых и старых людей к концу исследования (на 270-й мин) концентрация глюкозы в крови не вернулась вновь к исходному уровню.

Нарушение толерантности к углеводам в основном зависит от рациона пожилого человека, в том числе его углеводного компонента. В работах, выполненных нами ранее, было показано, что содержание углеводов в пище в значительной степени определяет состояние толерантности к углеводам и направленность при этом липидного обмена. Так, при жировой нагрузке у пожилых и старых людей с нарушенной толерантностью к углеводам была отмечена более выраженная гипертриглицеридемия, которая носила продолжительный характер и сохранялась еще через 9 ч после нагрузки. Эти изменения могут свидетельствовать о существенных сдвигах в обмене липидов, о выпадении одного или нескольких звеньев, обеспечивающих соотношение между поступлением в кровотоки жира и элиминацией его тканями, а также состоянием толерантности организма к углеводам.

В настоящем исследовании было также установлено, что у пожилых людей с нарушенной толерантностью к глюкозе и признаками ИР отмечены более выраженные сдвиги липидного состава крови по сравнению с лицами молодого возраста. Наиболее выраженными ( $P < 0,05$ ) изменениями у обследованных пожилого возраста были гипертриглицеридемия, повышение уровня ХС ЛПНП и снижение ХС ЛПВП. Повышенный уровень общего ХС ( $\geq 5$  ммоль/л) выявлен у 12 (63 %) пожилых людей, гипертриглицеридемия ( $\geq 1,77$  ммоль/л) — у 5 (26 %), тогда как у обследованных 20–39 лет повышенный уровень общего ХС выявлен только у 6 (40 %), а триглицеридов — у 2 (13 %). В то же время, у 13 (68 %) пожилых людей отмечено повышение уровня ХС ЛПНП ( $\geq 3$  ммоль/л), а уровень ХС ЛПВП ( $\leq 1,2$  ммоль/л) снижен у 18 % обследованных. Индекс атерогенности был повышен у 21 % людей пожилого возраста. Отмеченные изменения носили более выраженный характер у пожилых лиц с ИР, т. е. при  $HOMA-IR \geq 2,77$  (табл. 1).

Таблица 1

## Показатели антропометрии, углеводного и липидного обмена у людей разного возраста в зависимости от индекса ИР

Показатель	20-39 лет	60-74 года	
	НОМА-IR $\leq 2,77$	НОМА-IR $\leq 2,77$	НОМА-IR $\geq 2,77$
НОМА-IR	1,53 $\pm$ 0,17	1,83 $\pm$ 0,29	7,52 $\pm$ 1,21**
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	22,86 $\pm$ 1,0	26,01 $\pm$ 1,27*	30,28 $\pm$ 1,65**
ОТ, см	74,27 $\pm$ 2,7	88,50 $\pm$ 4,68*	96,78 $\pm$ 3,74*
ОБ, см	92,87 $\pm$ 1,09	100,50 $\pm$ 3,35*	108,78 $\pm$ 3,37**
ОТ/ОБ	0,80 $\pm$ 0,01	0,88 $\pm$ 0,01*	0,90 $\pm$ 0,01*
Общий ХС, ммоль/л	4,85 $\pm$ 0,18	5,73 $\pm$ 0,36*	6,35 $\pm$ 0,26*
Триглицериды, ммоль/л	1,00 $\pm$ 0,12	1,53 $\pm$ 0,12*	1,68 $\pm$ 0,27*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,42 $\pm$ 0,04	1,39 $\pm$ 0,09	1,37 $\pm$ 0,08
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,93 $\pm$ 0,02	3,68 $\pm$ 0,52*	4,21 $\pm$ 0,22*
Глюкоза, ммоль/л	5,68 $\pm$ 0,15	6,11 $\pm$ 0,16	6,71 $\pm$ 0,28*
Инсулин, мкЕД/мл	5,77 $\pm$ 0,79	6,64 $\pm$ 1,2	25,74 $\pm$ 4,21**
Индекс атерогенности	2,47 $\pm$ 0,20	3,23 $\pm$ 0,32*	3,81 $\pm$ 0,42*

Примечания: \* —  $P < 0,05$  по сравнению с молодыми людьми, # —  $P < 0,05$  по сравнению с пожилыми людьми с индексом ИР  $< 2,77$ .

В проведенном нами исследовании показана роль ИР с такими факторами риска атеросклероза, как гиперинсулинемия, дислипидемия и ожирение. В проспективных исследованиях (в частности, Фремингемском) базальная гиперинсулинемия рассматривается как независимый предиктор развития осложнений ИБС [13]. Обращает внимание и тот факт, что у людей пожилого возраста индекс  $НОМА \geq 2,77$  обусловлен повышенным уровнем инсулина в плазме крови натощак. Если у лиц молодого возраста и у пожилых без признаков ИР он не превышал 7 мкЕд/мл, то у лиц пожилого возраста с ИР он составил (25,74  $\pm$  4,21) мкЕд/мл ( $P < 0,05$ ). Некоторые исследователи [8, 20] показали, что ИР может быть обусловлена наличием центрального типа ожирения, поскольку ожирение является важным компонентом метаболического синдрома.

О первичности ожирения или ИР в развитии дислипидемии до сих пор ведется дискуссия. Известно, что у больных с ожирением высокий риск развития артериальной гипертензии, СД 2 и гиперлипидемии. В нашем исследовании из 11 пожилых людей с  $НОМА-IR \geq 2,77$  у 5 чел. ИМТ был  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>. Тканевая ИР ассоциируется в этой группе обследованных и с увеличением ИМТ, ОТ и ОБ. Несомненно, что при наличии абдоминального ожирения ИР может быть ведущим патогенетическим (связывающим) звеном в развитии гиперлипидемии и нарушений углеводного обмена. Известно, что при нарушениях в липид-транспортной системе главную роль играет гипер-

Таблица 2

Показатели углеводного и липидного обмена у людей пожилого возраста с признаками ИР ( $HOMA-IR \geq 2,77$ ) с ожирением и без ожирения

Показатель	ИМТ $\leq 30$ кг/м <sup>2</sup> <i>n</i> = 6	ИМТ $\geq 30$ кг/м <sup>2</sup> <i>n</i> = 5
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,37 ± 1,54	33,48 ± 1,71*
ОТ, см	89,50 ± 5,46	103,00 ± 3,29*
ОБ, см	101,50 ± 1,41	115,00 ± 4,37*
ОТ/ОБ	0,88 ± 0,01	0,90 ± 0,01
Общий ХС, ммоль/л	6,06 ± 0,48	6,50 ± 0,30
Триглицериды, ммоль/л	1,81 ± 0,27	1,97 ± 0,77*
ХС ЛПНП, ммоль/л	4,05 ± 0,31	4,88 ± 0,33*
Глюкоза, ммоль/л	6,01 ± 0,19	6,79 ± 0,52*

Примечания: \* —  $P < 0,05$  по сравнению с пожилыми людьми с ИМТ  $\leq 30$  кг/м<sup>2</sup>.

холестеринемия, причем как за счет общего ХС, так и ХС ЛПНП. Однако ИР ассоциируется в основном с гипертриглицеридемией, со снижением уровня ХС ЛПВП и повышением уровня ХС ЛПНП [16, 20]. В нашем исследовании показано, что при увеличении ИМТ и *HOMA*-индекса повышается уровень триглицеридов, общего ХС и ХС ЛПНП (табл. 2.).

Исходя из рекомендаций Европейского общества кардиологов и Европейской ассоциации по изучению сахарного диабета [17], нами были опрошены все обследованные по шкале *FINDRISK* (*FIN*nish *Diabetes Risk Score*) для оценки риска развития СД 2 у взрослых в течение 10-летнего периода в модифицированном виде по *J. Lindstrom, J. Tuomilehto* (2003). Данный метод позволяет оценить риск развития СД 2 с точностью до 85 %, а также выявить нарушение толерантности к глюкозе и бессимптомный СД.

При анализе наших данных у 3 пожилых людей с ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> и *HOMA-IR*  $\geq 2,77$  риск был оценен как умеренный (развитие СД возможно в 1 случае из 6), а у 2 — как высокий (развитие СД возможно в каждом третьем случае). В то же время, у 6 пожилых людей с ИМТ  $\leq 30$  кг/м<sup>2</sup> и *HOMA-IR*  $\leq 2,77$  риск был оценен как незначительно повышенный (развитие СД возможно в 1 случае из 25). Это также подтверждает положение о том, что при ожирении (ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>) и ИР (*HOMA-IR*  $\geq 2,77$ ) риск развития СД и метаболического синдрома многократно увеличивается по сравнению с группой лиц, у которых данные нарушения не отмечаются. Следует указать, что, к сожалению, этот подход используется редко. Результаты нашего исследования показали, что первичный скрининг пожилых людей для выявления лиц с ИР наиболее эффективно проводить, используя шкалу для неинвазивного определения риска в сочетании с измерениями антропометрических величин, определением *HOMA-IR* и проведением диагностического перорального глюкозо-толерантного

теста. Это позволит оценить последующий риск развития сердечно-сосудистых осложнений [18, 19].

**Выводы.** Результаты нашего исследования показали, что с возрастом увеличивается частота встречаемости нарушенной толерантности к углеводам (у 25 % пожилых людей). В группе молодых людей не было случаев ИР, которая наблюдалась у половины людей пожилого возраста. Пожилые люди с признаками ИР имели более значимые изменения липидного состава крови, чем у пожилых без признаков ИР. У них отмечены более высокие уровни общего ХС, триглицеридов, ХС ЛПНП и ЛПОНП. Таким образом, ИР ассоциируется с возрастом, с увеличением ИМТ, ОТ и ОБ, а также с повышением уровней общего ХС, ХС ЛПНП и триглицеридов сыворотки крови. Данное исследование позволяет сделать вывод о том, что состояние ИР на фоне гиперинсулинемии запускает ряд механизмов, которые определяют развитие метаболического синдрома, и приводит к нарушению обмена липидов и углеводов.

### Литература

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Майоров А. Ю. и др. Этиология и патогенез сахарного диабета 2 типа // Руководство для врачей “Сахарный диабет”. — М., 2003. — С. 133–150.
2. Орлов П. А. Особенности специфического динамического действия глюкозы у людей пожилого и старческого возраста: Автореф. дис. ... канд. мед. н. — Киев, 1971. — 24 с.
3. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії: Посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії. — К., 2004. — 86 с.
4. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. — Киев: Наук. думка, 1981. — 352 с.
5. Фролькис В. В., Коркушко О. В., Богацкая Л. Н. Инсулиновая обеспеченность организма в старости. — Киев: Ин-т геронтологии АМН СССР, 1977. — 112 с.
6. Adult treatment panel III third report of the National Cholesterol Education Programme (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) final report // Circulation. — 2002. — **106**, № 25. — P. 3143–3421.
7. Alberti K. G., Zimmet P., Shaw J. The metabolic syndrome — a new worldwide definition // Lancet. — 2005. — **366**, № 9491. — P. 1059–1062.
8. Cazzo J. Insulin resistance in obese and non obese man. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1991. — **73**. — P. 691–695.
9. De Backer G., Ambrosioni K., Borch-Johnsen K. et al. Third Joint Task Force of the European and other societies European guidelines on cardiovascular disease prevention // Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehab. — 2003. — **10** (Suppl. 1). — P. 1–78.
10. Executive summary of the third report of the National cholesterol education program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) // JAMA. — 2001. — **285**. — P. 2486–2497.



11. *Griffin M. E., Marcucci M. J., Cline G. W. B.* et al. Free fatty acid-induced insulin resistance associated with activation of protein kinase C and alterations in the insulin signaling cascade // *Diabetes*. — 1999. — **48**. — P. 1270–1274.
12. *Haffner S. M., Miettinen H., Gaskill S. P., Stern M. P.* Metabolic precursors of hypertension // *Arch. Intern. Med.* — 1996. — **156**. — P. 1994–2000.
13. *Kannel W. B., Castelli W. P., McNamara M. P.* The coronary profile: 12-year follow-up in Framingham Study // *J. Occup. Med.* — 1987. — **9**. — P. 611–619.
14. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series, № 894).* — Geneva: WHO, 2000. — 265 p.
15. *Reaven G. M., Chen Y. D.* Role of abnormal free fatty acid metabolism in the development of non-insulindependent diabetes mellitus // *Am. J. Med.* — 1988. — **85**, № 5A. — P. 106–112.
16. *Reaven G. M.* Role of insulin resistance in human disease // *Diabetes*. — 1988. — **37**. — P. 1595–1607.
17. *Ryden L., Standl E., Bartnik M., Van den Berghe G.* Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) // *Eur. Heart J.* — 2007. — **28**, № 1. — P. 88–136.
18. *Schernthaner G., Matthews D. R., Charbonnel B.* et al. Quartet [corrected] Study Group Efficacy and safety of pioglitazone versus metformin in patients with type 2 diabetes mellitus: a double-blind, randomized trial // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2004. — **89**, № 12. — P. 6068–6076.
19. *Standl E., Fuchtenbusch M.* The role of oral antidiabetic agents: why and when to use an early-phase insulin secretion agent in Type II diabetes mellitus // *Diabetologia*. — 2003. — **46**, Suppl. I. — P. 30–36.
21. *Tschritter O., Fritsche A., Shirkavand F.* et al. Assessing the shape of the glucose curve during an oral glucose tolerance test // *Diabetes Care*. — 2003. — **26**. — P. 1026–1033.
22. *Turner R. C., Milns H., Neil H. A. W.* et al. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom prospective diabetes study (UKPDS: 23) // *Br. Med. J.* — 1998. — **316**. — P. 823–828.
23. *Unger R. H., Orci L.* Diseases of liporegulation: new perspective on obesity and related disorders // *FASEB J.* — 2001. — **15**. — P. 312–321.
24. *Wallace T. M., Levy J. C., Matthews D. R.* Use and abuse of HOMA modeling // *Diabetes Care*. — 2004. — **27**, № 6. — P. 1487–1495.
25. *Zimmet P., Shaw J., Alberti G.* Preventing type 2 diabetes and the dysmetabolic syndrome in the real world: a realistic view // *Diabetic med.* — 2003. — **20**, № 9. — P. 693–702.

Поступила 13.07.2009

## **ROLE OF INSULIN RESISTANCE IN THE DEVELOPMENT OF DYSLIPIDEMIA IN THE ELDERLY PEOPLE**

**O. V. Korkushko, V. B. Shatilo, V. P. Chizhova, V. A. Ishchuk**

State Institution “D. F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine”,  
04114 Kyiv

The results of investigation of 34 subjects of various age (15 persons aged 20–39, 19 persons aged 60–74) revealed a disturbance of tolerance to carbohydrates in 5 (25%) elderly subjects, while in 11 (75%) young subjects (including 5 subjects with the body weight index  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) the coefficient of insulin resistance (IR)  $\geq 2.77$ . No cases of IR were found in the young subjects, whereas it was revealed in 50% of the elderly subjects having more significant changes in the blood lipid composition. In addition, the latter vs. elderly subjects without signs of IR had higher levels of total cholesterol (Ch), triglycerides, Ch of low and very low density lipoproteins. IR was shown to be associated with age, with an increase of body weight index, circumference of waist and hips, as well as with an increase in the levels of total Ch, Ch of low density lipoproteins and blood serum triglycerides.

## ЗАЛЕЖНІСТЬ МІНЕРАЛЬНОЇ ЩІЛЬНОСТІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ВІД *Xba*-ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЕСТРОГЕНА *ER1 $\alpha$* У ЖІНОК ЛІТНЬОГО ВІКУ

І. М. Пішель, О. О. Євтушенко, Ю. І. Леонов, Н. В. Григор'єва,  
Т. В. Орлик, Д. В. Шитіков, М. Г. Ахаладзе, В. І. Варус\*,  
В. В. Поворознюк, Г. М. Бутенко

Державна установа “Інститут геронтології  
ім. акад. Д. Ф. Чеботарьова АМН України”, 04114 Київ

\*Науково-дослідний інститут проблем військової медицини ЗС України,  
08203 Ірпінь

Визначали зв'язок між структурно-функціональними порушеннями кісткової тканини та наявністю *Xba*-поліморфізму гена рецептора естрогена *ER1 $\alpha$*  у 152 жінок віком 51–70 років. Дослідження проводили методом ПДРФ-полімеразної ланцюгової реакції. Доведено, що наявність генотипу *xx* гена *ER1 $\alpha$*  (*Xba*I) має вірогідну діагностичну значимість щодо зниження мінеральної щільності кісткової тканини променевої кистки у жінок постменопаузального періоду в українській популяції.

**Ключові слова:** поліморфізм генів, кісткова тканина, старіння, рецептор естрогенів.

З віком щільність кісткової тканини зменшується як у людини, так і у тварин. Це зменшення має назву “остеопенія” і у виражених випадках призводить до патологічного зниження щільності кісткової тканини — остеопорозу, що має наслідком зменшення міцності кістки та схильність до переломів. Останнім часом остеопороз набув великого розповсюдження, особливо серед населення розвинутих країн, та став значною медичною і соціальною проблемою [12].

© І. М. Пішель, О. О. Євтушенко, Ю. І. Леонов (leonov@geront.kiev.ua), Н. В. Григор'єва, Т. В. Орлик, Д. В. Шитіков, М. Г. Ахаладзе, В. І. Варус, В. В. Поворознюк, Г. М. Бутенко, 2009.

Чинниками, які впливають на розвиток остеопорозу у людей похилого віку, є зниження рівня статевих гормонів у крові, розвиток вторинного гіперпаратиреоїдизму (який, в свою чергу, призводить до зниження абсорбції кальцію з кишечника, особливо в осіб віком понад 75 років), збільшення концентрації глюкокортикоїдів у крові, прозапальна спрямованість імунної системи [1, 4].

Кісткова тканина має клітини, які беруть участь у мінералізації та демінералізації сполучнотканинного матриксу, а також вільні площини, які включають в себе кістково-мозкову порожнину, васкулярні канали й лакуни. Під час розвитку і росту організму відбувається постійна зміна стану кістки: в місці, де знаходились лакуни, нарощується кісткова тканина, а на місці старої кістки утворюються лакуни. Ці процеси називаються моделюванням. Коли скелет людини досягає стану зрілості, регенерація кістки виглядає як періодичне заміщення старої кісткової тканини новою в одному й тому ж місці. Цей процес зветься ремоделюванням і завдяки йому відбувається повна заміна тканин скелету кожні 10 років життя організму.

Велику роль в регуляції гомеостазу кістки відіграють статеві гормони — естрогени і андрогени. Механізм дії статевих стероїдів на стан тканин скелету до кінця не з'ясований. Було показано, що при настанні менопаузи (або після кастрації у чоловіків) швидкість процесів ремоделювання різко збільшується. Цей факт було підтверджено також в експериментах на мишах. Зниження рівня статевих стероїдів підвищує швидкість утворення остеокластів і остеобластів у кістковому мозку шляхом підвищення продукції та активності цитокінів, які беруть участь у процесах остеокласто- і остеобластогенеза [2, 10]. Навпаки, естрогени і андрогени пригнічують не тільки продукцію Іл-6, але й експресію двох субодиниць рецептора Іл-6 (*IL-6R* та *gp130*) клітинами кісткового мозку [8]. Існування супресорної дії статевих стероїдів на рівень Іл-6 і рецепторів до нього підтверджено багатьма (хоча і не всіма) дослідженнями. Показано, що рівень цитокіну підвищується у естроген-дефіцитних мишей, щурів, а також у людей (причому як у периферичній крові, так і в кістковому мозку). Більш того, нейтралізація Іл-6 антитілами або видалення гена Іл-6 у мишей запобігає зниженню щільності кісткової тканини при дефіциті естрогенів [11].

Крім зниження продукції Іл-6, естрогени пригнічують також синтез фактора некрозу пухлин (*TNF*) і колонієстимулюючого фактора *M-CSF*, а падіння рівня естрогенів підвищує чутливість остеокластів до дії Іл-1 [11]. Слід також відзначити, що в дослідженнях *in vitro* була встановлена здатність естрогенів стимулювати продукцію остеопротегерину клітинною лінією остеобластів людини [5].

Як вже було відзначено вище, підвищення швидкості ремоделювання кістки (індуковане зниженням рівня естрогенів) обумовлено прискоренням процесів остеобласто- і остеокластогенезу, що само по собі може вести до втрати мінералізованого матрикса кістки по двом причинам: по-перше,

резорбція кістки (і зниження її щільності) проходить швидше, ніж наступне утворення нової тканини; по друге, новоутворена кісткова тканина менш щільна, ніж стара. Однак крім кількісних змін (посилення процесів ремоделювання) зниження рівня естрогенів призводить і до якісних змін: остеокласти формують більш глибокі лакуни. Цей процес можна пояснити тим, що естрогени діють на зрілі остеокласти, провокуючи їх апоптоз. Отже, зниження рівня естрогенів сприяє підвищенню життєздатності та функціональної активності остеокластів [15].

На відміну від проапоптотичної дії естрогенів на остеокласти, вони (як і андрогени) мають виражену антиапоптотичну дію щодо остеобластів і остеоцитів. Зниження рівня цих стероїдів призводить до скорочення тривалості життя останніх [9].

Таким чином, підвищена швидкість процесів ремоделювання кісткової тканини, яка розвивається в умовах дефіциту естрогенів, може призводити до підвищення продукції остеобластів і остеокластів, а також до порушення балансу між процесами резорбції та формування кісткової тканини, спровокованого, з одного боку, збільшенням часу функціональної активності остеокластів та зменшенням часу функціональної активності остеобластів — з другого.

Існування генетичного контролю стану кісткової тканини було показано ще до прориву в молекулярно-біологічних технологіях, воно було основане на аналізі сімейної патології. Згідно з даними генеалогічного обстеження, наявність остеопорозу у найближчих родичів як мінімум подвоює ризик розвитку цього захворювання [13]. Встановлено також існування більш високого ризику розвитку остеопорозу у жінок у порівнянні з чоловіками незалежно від раси або країни проживання [4].

Генетичний аналіз локалізації ділянок ДНК, пов'язаних з розвитком остеопенії у мишей, виявив 5 локусів, розташованих на хромосомах 2, 7, 11 і 16 [7]. Зв'язок цих локусів із розвитком остеопорозу було доведено в експериментах при схрещуванні різних рекомбінантних ліній мишей [14]. Цікавим виявився той факт, що на ділянках ДНК, які розташовані поблизу цих локусів, знаходяться більше 12 генів, які відповідають за гомеостаз кісткової тканини (таких, як простагландинсинтаза, антагоніст *BMP-2/4*, проапоптотичний білок *bax*, ІЛ.-11 та ін.).

Таким чином, внутригеномна взаємодія різних генів, а також взаємодія з оточуючим середовищем є основними напрямками досліджень останніх років. Розуміння молекулярної фізіології ефектів певних генів можливо сприяє розробці більш індивідуалізованої діагностики та лікування захворювання.

У нашому дослідженні ми обрали шлях визначення залежності між поліморфізмом маркерного гена (у даному випадку рецептора естрогена 1-альфа (*ER1 $\alpha$* ), який є найхарактернішим для групи ризику розвитку остеопорозу) та рядом фенотипічних показників (щільність кісткової тканини, антропологічні, загальноклінічні, біохімічні показники).

Мета нашого дослідження — визначення зв'язку між структурно-функціональними порушеннями кісткової тканини та наявністю поліморфізму гена *ER1α* у жінок у постменопаузальному періоді.

**Обстежувані та методи.** У відділі клінічної фізіології та патології опорно-рухового апарату Інституту геронтології АМН України (керівник — проф. В. В. Поворознюк) обстежено 152 жінки віком 51–70 років (вікові групи об'єднані, оскільки генотип не має вікової різниці, і саме в цей віковий період виникає постменопаузальний остеопороз), які знаходились в пери- та постменопаузальному періоді життя. В обстеження включали тільки тих пацієнток, в яких перелом стався внаслідок падіння з висоти їх зросту або нижче. У контрольну групу увійшли практично здорові жінки без переломів у анамнезі.

Частоту виявлення мутацій в обстежених наведено в табл. 1.

Таблиця 1

**Частота виявлення мутацій гена *ER1α* в обстежених пацієнток, абс. (%)**

Генотип	Гомозигота 1	Гетерозигота	Гомозигота 2
<i>ER1α</i> ( <i>Xba</i> I)	XX: 22 (14,5)	Xx: 74 (48,7)	xx: 56 (36,8)
<i>ER1α</i> ( <i>Pvu</i> II)	PP: 32 (21,1)	Pp: 76 (50,0)	pp: 44 (28,9)

Для розподілу пацієнток на групи в залежності від стану кісткової тканини використовували критерії ВООЗ щодо остеопорозу: 1 група — з нормальним станом кісткової тканини ( $T < -1SD$ ), 2 група — з остеопенією ( $T$  від  $-1,5$  до  $-2,5SD$ ), 3 група — з остеопорозом ( $T < -2,5SD$ ). Діагностування остеоартрозу колінних суглобів проводили з використанням робочої класифікації Асоціації ревматологів України (2000 р.). Рентгенологічну стадію остеоартрозу колінних суглобів визначали за класифікацією *Kellgren – Lawrence*.

Структурно-функціональний стан кісткової тканини оцінювали за допомогою двофотонної абсорбціометрії (в її методиці використовуються радіонукліди, що випромінюють фотони двох різних енергій). Перевагою даного методу є можливість кількісної оцінки мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) в тих ділянках скелета, що оточені великими й нерівномірними масами м'яких тканин. Найкращими об'єктами для проведення дослідження є поперековий відділ хребта, проксимальні частини стегнових кісток, променева кістка. МЩКТ визначали з використанням двоенергетичного рентгенівського денситометра «*Prodigy*» (*GE Medical systems, Lunar, model 8743, 2005, США*).

Для визначення поліморфізму генів 100 мкл гепаринізованої крові розчиняли у 300 мкл лізуючого розчину. Зразки зберігали при  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведення полімеразної ланцюгової реакції. Поліморфізм генів визначали

методом ПДРФ-ПЛР, який забезпечує виявлення точкових мутацій за допомогою специфічних ендонуклеаз (табл. 2).

Таблиця 2

**Послідовність олігонуклеотидних праймерів для ампліфікації вибраних для аналізу поліморфізму гена *ER1α***

Послідовність	Довжина ампліфікованого фрагменту, п. о.	Ендонуклеаза	Довжина рестрикованих фрагментів, п. о.
5'-CTGCCACCSTATCTGTATCTTTTCSTATTCCTCC-3' 5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTCGATTATCTGA-3'	1300	<i>Xba</i> I	900 + 400
5'-CTGCCACCSTATCTGTATCTTTTCSTATTCCTCC-3' 5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTCGATTATCTGA-3'	1300	<i>Pvu</i> II	850 + 450

Після проведення ПЛР до зразків додавали специфічні ендонуклеази, суміш інкубували при 37 °С протягом 2 год. Про наявність або відсутність точкової мутації судили за наявністю або відсутністю розрізання продукту ампліфікації. Після аналізу зразки класифікували як *XX*, *Xx* або *xx*, а також як *PP*, *Pp* або *pp* (великі літери — відсутність, маленькі — наявність місць рестрикції для ендонуклеаз *Xba*I і *Pvu*II, відповідно).

Згідно з даними літератури, функціональні порушення структури кісткової тканини виникають в результаті змін у продукції ряду факторів, які, у свою чергу, залежать від змін у послідовності різних генів (точкових мутацій). Ці порушення призводять або до змін у будові білкової молекули, або до зниження її продукції та експресії. У представленому дослідженні методом ПДРФ-ПЛР вивчали вплив окремих точкових мутацій у гені *ER1α* (*Xba*I та *Pvu*II), які можуть опосередковано призводити до змін у будові молекули рецептора.

Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Дані щодо загальноклінічних показників, а також показників структурно-функціонального стану кісткової тканини, які мають вірогідний зв'язок із наявністю досліджуваного поліморфізму гена *ER1α* (*Xba*I та *Pvu*II), наведено в табл. 3,4.

Як видно з табл. 3, жінки з різним генотипом гена *ER1α* (*Xba*I) не відрізняються за віком, тривалістю менопаузи, масою тіла, зростом та індексом маси тіла. У той же час, жінки з різним генотипом *PP* гена *ER1α* (*Pvu*II) вірогідно відрізнялись за тривалістю менопаузи (табл. 4). За даними літератури,

Таблиця 3

Характеристика пацієнток з різними генотипами гена  $ER1\alpha$  ( $Xb\alpha I$ ),  $M \pm SD$ 

Послідовність	XX	Xx	xx
Вік, роки	60,89 $\pm$ 6,03	58,83 $\pm$ 7,10	58,48 $\pm$ 7,08
Тривалість менопаузи, роки	10,68 $\pm$ 6,78	10,14 $\pm$ 7,59	9,65 $\pm$ 6,62
Маса тіла, кг	79,18 $\pm$ 15,03	73,47 $\pm$ 14,26	76,75 $\pm$ 16,62
Зріст, см	161,06 $\pm$ 5,96	161,94 $\pm$ 5,40	161,65 $\pm$ 6,04
Індекс маси тіла, кг/м <sup>2</sup>	30,57 $\pm$ 5,72	28,05 $\pm$ 5,43	29,33 $\pm$ 5,9
Кількість переломів, %	55,6	30,2	39,6
Кількість переломів у жінок із тривалістю менопаузи $\geq$ 5 років, %	62,5	27,9	55,9
Кількість остеопорозних переломів, % від загальної кількості переломів	75	50	76,5
МЩКТ всього тіла, $\mu$ /см <sup>3</sup>	1,06 $\pm$ 0,12	1,11 $\pm$ 0,11	1,04 $\pm$ 0,09
T-критерій для МЩКТ всього тіла	-0,78 $\pm$ 1,48	-0,18 $\pm$ 1,47	-0,99 $\pm$ 1,15
МЩКТ поперекового відділу хребта, $\mu$ /см <sup>3</sup>	0,96 $\pm$ 0,18	1,03 $\pm$ 1,15	0,96 $\pm$ 1,14
T-критерій для поперекового відділу хребта	-1,89 $\pm$ 1,39	-1,34 $\pm$ 1,22	-1,91 $\pm$ 1,11
МЩКТ променевої кістки, $\mu$ /см <sup>3</sup>	0,58 $\pm$ 0,09	0,62 $\pm$ 0,11	0,54 $\pm$ 0,10
МЩКТ середньої третини променевої кістки, $\mu$ /см <sup>3</sup>	0,74 $\pm$ 0,12	0,79 $\pm$ 0,12	0,70 $\pm$ 0,13
МЩКТ ультрадистального відділу променевої кістки, $\mu$ /см <sup>3</sup>	0,38 $\pm$ 0,07	0,43 $\pm$ 0,11	0,35 $\pm$ 0,10
МЩКТ шийки стегна, $\mu$ /см <sup>3</sup>	0,79 $\pm$ 0,23	0,88 $\pm$ 0,12	0,84 $\pm$ 0,10



Таблиця 4

Характеристика пацієток з різними генотипами гена *ER1α* (*PvuII*),  $M \pm SD$ 

Показник	<i>PP</i>	<i>Pp</i>	<i>pp</i>
Вік, <i>років</i>	60,04 ± 6,99	59,81 ± 6,87	57,18 ± 7,09
Тривалість менопаузи, <i>років</i>	12,71 ± 7,30	10,49 ± 7,26	7,93 ± 6,31
Маса тіла, <i>кг</i>	78,58 ± 12,24	73,27 ± 15,37	79,05 ± 16,66
Зріст, <i>см</i>	163,12 ± 6,48	161,37 ± 5,38	162,28 ± 5,74
Індекс маси тіла, <i>кг/м<sup>2</sup></i>	29,51 ± 4,09	28,12 ± 5,67	30,09 ± 6,45
Кількість переломів, %	31,0	37,5	48,6
Кількість переломів у жінок із тривалістю менопаузи ≥5 років, %	26,9	38,1	50,0
Кількість остеопорозних переломів, % від загальної кількості переломів	55,6	52,4	53,3

при збільшенні тривалості менопаузи знижується рівень естрогенів, що істотно впливає на МЩКТ. У жінок із тривалістю менопаузи більше 10 років за рахунок зниження рівня естрогенів також істотно підвищується частота виникнення переломів. Тому аналізувати отримані дані та стверджувати про наявність зв'язку між частотою виникнення переломів та певними алелями гена в групах жінок з різною тривалістю менопаузи не є коректним.

З усіх показників структурно-функціонального стану кісткової тканини вірогідні відмінності були встановлені для МЩКТ окремих відділів скелету: променевої кістки, поперекового відділу хребта та шийки стегна (див. табл. 3). Нами не була відзначена залежність між хх-генотипом *ER1α* й МЩКТ поперекового відділу хребта та стегнової кістки (аналогічна дослідженням *J. P. A. Ioannidis* та співавт. [14]), але була виявлена вірогідна залежність між хх-генотипом *ER1α* та МЩКТ променевої кістки.

У більшості досліджень розвиток та вираженість остеопорозу асоціюють з МЩКТ, тоді як клінічну картину остеопорозу найповніше відображає такий показник, як наявність переломів. Слід зазначити, що лише невелика кількість дослідників пов'язує поліморфізм маркерних генів із наявністю переломів в анамнезі пацієнтів. Одні з найперших робіт (дослідження *A. G. Uitterlinden* та співавт. [16], *J. P. Ioannidis* та співавт. [6], *E. M. Colin* та співавт. [3]) показали, що наявність х-алеля *XbaI*-поліморфізму *ER1*-гена пов'язана з підвищенням ризику виникнення як переломів хребта, так і інших переломів. Так, було визначено, що генотип хр *XbaI*- та *PvuII*-поліморфізму гена *ER1α* пов'язаний з підвищенням ризику виникнення переломів хребта, може, саме тому, що включає в себе й алель х, який пов'язаний зі зниженням МЩКТ поперекового відділу хребта.

В наших дослідженнях ми також встановили залежність між *XbaI*-поліморфізмом гена *ER1α* та МЩКТ шийки стегна. Але, за нашими даними, в українській популяції з порушенням структурно-функціонального

стану кісткової тканини був пов'язаний не *x*-, а *X*-алель, що може відображати наявність особливостей у генотипі нашої популяції. До того ж, носії *XX*-алеля *Xba*I-поліморфізму гена *ERα*I мають відносний ризик переломів 1,55 (95 % ДІ: 0,97-2,48) у порівнянні з жінками-носіями *Xx*- або *xx*-алелів (з тривалістю менопаузи  $\geq 5$  років), але відсутність доведеної статистичної різниці ( $P = 0,10$ ), що свідчить про неефективність використання цього показника в якості маркерного.

Таким чином, нами показано, що у жінок постменопаузального періоду в українській популяції існує залежність між наявністю *x*-алеля *Xba*I-поліморфізму гена *ER1a* та зниженою МЩКТ променевої кістки, а також між наявністю *X*-алеля *Xba*I-поліморфізму та зниженою МЩКТ шийки стегна. Однак в якості маркера відносного ризику переломів останній показник доцільно використовувати в комплексі з іншими.

### Література

1. Поворознюк В. В., Нейко Є. М., Головач І. Ю. Глюкокортикоїдіндукований остеопороз. — К.: ТМК, 2002. — 208 с.
2. Balasch J. Sex steroids and bone: current perspectives // Hum. Reprod. Update. — 2003. — 9, № 1. — P. 207–222.
3. Colin E. M., Uitterlinden A. G., Meurs J. B. J. et al. Pols Interaction between vitamin D receptor genotype and estrogen receptor genotype influences vertebral fracture risk // J. Clin. Endocrinol. Metabolism. — 2003. — 88, № 8. — P. 3777–3784.
4. Costa A. F. P, dos Reis L. M., Ribeiro M. C. et al. Effects of calcitriol on parathyroid function and on bone remodelling in secondary hyperparathyroidism // Nephrol. Dial. Transplant. — 2003. — 18, № 2. — P. 743–749.
5. Hofbauer L. C., Khosla S., Dunstan C. R. et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells // Endocrinology. — 1999. — 140, № 5. — P. 4367–4370.
6. Ioannidis J. P., Stavrou I., Trikalinos T. A. et al. Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: meta-analysis // J. Bone Miner. Res. — 2002. — 17, № 11. — P. 2048–2060.
7. Klein R. F., Mitchell S. R., Phillips T. J. et al. Quantitative trait loci affecting peak bone mineral density in mice // J. Bone Miner. Res. — 1998. — 13, № 10. — P. 1648–1656.
8. Lin S. C., Yamate T., Taguchi Y. et al. Regulation of the gp80 and gp130 subunits of the IL-6 receptor by sex steroids in the murine bone marrow // J. Clin. Invest. — 1997. — 100, № 8. — P. 1980–1990.
9. Manolagas S.C. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis // Endocr. Rev. — 2000. — 21, № 2. — P. 115–137.
10. Okazaki R., Inoue D., Shibata M. et al. Estrogen promotes early osteoblast differentiation and inhibits adipocyte differentiation in mouse bone marrow stromal cell lines that express estrogen receptor (ER)  $\alpha$  or  $\beta$  // Endocrinology. — 2002. — 143, № 3. — P. 2349–2356.
11. Pfeilschifter J., Köditz R., Pfohl M., Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause // Endocr. Rev. — 2002. — 23, № 1. — P. 90–119.
12. Prevention and management of osteoporosis. — Geneva: WHO, 2003. — 192 p.

13. *Seeman E., Tsalamandris C., Formica C. et al.* Reduced femoral neck bone density in the daughters of women with hip fractures: the role of low peak bone density in the pathogenesis of osteoporosis // *J. Bone Miner. Res.* — 1994. — **9**, № 5. — P. 739–743.
14. *Shimizu M., Higuchi K., Bennett B. et al.* Identification of peak bone mass QTL in a spontaneously osteoporotic mouse strain // *Mamm. Genome.* — 1999. — **10**, № 1. — P. 81–87.
15. *Tomkinson A., Gevers E. F., Wit J. M. et al.* The role of estrogen in the control of rat osteocyte apoptosis // *J. Bone Miner. Res.* — 1998. — **13**, № 8. — P. 1243–1250.
16. *Uitterlinden A. G., Weel A. E., Burger H. et al.* Interaction between the vitamin D receptor gene and collagen type I alpha 1 gene in susceptibility for fracture // *J. Bone Miner. Res.* — 2001. — **16**, № 2. — P. 379–385.

Надійшла 10.06.2009

## **DEPENDENCE OF BONE MINERAL DENSITY ON XBA- POLYMORPHISM OF ER1A ESTROGEN RECEPTOR GENE IN THE ELDERLY WOMEN**

**I. N. Pishel, O. A. Yevtushenko, Yu. I. Leonov, N. V. Grygoryeva,  
T. V. Orlyk, D. V. Shytikov, N. G. Akhaladze, V. I. Varus\*,  
V. V. Povoroznyuk, G. M. Butenko**

State Institution “D. F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine”,  
04114 Kyiv

\*Research Institute of Military Medicine Problems of Armed Forces of Ukraine,  
08203 Irpin

The investigation of relationships between disturbances in the structure and function of the osseous tissue and Xba polymorphism of ER1a estrogen receptor gene using RFLP-PCR method involved 152 women aged 51–70. The results obtained showed the presence of genotype of ER1a EE gene (XbaI) might have a potential diagnostic value with special reference to a decrease of mineral density of the osseous tissue of radial bone in postmenopausal women in Ukraine's population.

## ЗВ’ЯЗОК МІНЕРАЛЬНОЇ ЩІЛЬНОСТІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА СТАНУ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ЖІНОК ЗАЛЕЖНО ВІД ТРИВАЛОСТІ ПОСТМЕНОПАУЗИ

**В. В. Поворознюк, О. І Нішкумай\***

Державна установа “Інститут геронтології ім. акад. Д. Ф. Чеботарьова  
АМН України”, 04114 Київ

\*Луганський державний медичний університет МОЗ України, 91045 Луганськ

Обстежено 52 жінки віком 41–82 роки у пре- та постменопаузальному періоді, яких було розподілено на 3 групи залежно від тривалості менопаузи: 1 — до 10 років ( $n = 17$ ), 2 — 10–19 років ( $n = 17$ ), 3 — понад 20 років ( $n = 18$ ). Виявлено, що в жінок у перші 10 років менопаузи відзначається слабка кореляція між показниками, що характеризують мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ) та ліпідний обмін. Зі збільшенням тривалості менопаузи (10–19 років) визначається сильна негативна кореляція між рівнями загального холестерину (ЗХ), холестерину ліпопротеїнів низької густини та МЩКТ у ділянці стегнової кістки. При тривалості постменопаузи понад 20 років майже на всіх ділянках кісткової тканини відзначаються сильна позитивна кореляція МЩКТ з рівнями ЗХ, тригліцеридів і атерогенними фракціями ліпопротеїнів та негативна — з рівнем холестерину ліпопротеїнів високої густини.

**Ключові слова:** постменопауза, остеопороз, дисліпідемія.

Важливим напрямом у сучасній науковій медицині є вивчення патогенетичних механізмів, які обумовлюють паралельний розвиток кардіальної патології та остеопорозу в період менопаузи [12,18,37]. Так, наприклад, є гіпотези про розвиток у жінок в постменопаузальному періоді остеопеніч-

© В. В. Поворознюк (okfpodac@ukr.net), О. І. Нішкумай, 2009.

ного синдрому, що обумовлено виникненням серцевої недостатності [23]. У хворих із цією патологією розвивається тканинна гіпоксія, хронічний нереспіраторний (метаболічний) ацидоз, порушується тканинний обмін, підвищується вміст органічних кислот у крові. Крім збільшення утворення органічних кислот причиною нереспіраторного ацидозу в цих хворих може бути недостатнє виділення та нейтралізація органічних кислот унаслідок ураження нирок і травного тракту. При нереспіраторному ацидозі знижується концентрація бікарбонатів крові та вміст CO<sub>2</sub> в альвеолярному повітрі, легенева вентиляція прискорена, кислотність та концентрація аміаку в сечі підвищені. Хронічний ацидоз є також причиною вимивання кальцію з кісток [2,7].

Частота розвитку остеопорозу в жінок із гіпертонічною хворобою (ГХ) у віці 45–64 роки вища, ніж у популяції. У пацієнтів із ГХ та супутньою ішемічною хворобою серця (ІХС) остеопоротичні зміни виявляються частіше, ніж у хворих на ГХ без ІХС. Спостерігається позитивна кореляція між ступенем остеопорозу і функціональним класом хронічної серцевої недостатності та негативна кореляція між вираженістю остеопорозу та фракцією викиду [14]. У результаті застосування гіпотензивних препаратів знижується ризик розвитку переломів стегнової та променевої кісток [3,5,6,10,16,17,32].

До недавнього часу метааналіз показував, що товщина інтими-медії є значним предиктором інфаркту міокарда та інсульту [28]. Деякі багатоцентрові дослідження також підтверджують кореляцію між товщиною інтими-медії судин та мінеральною щільністю кісткової тканини (МЩКТ) [40]. Але невідомо, чи може низька МЩКТ бути предиктором більш вираженого атеросклерозу.

Зв'язок атеросклеротичних процесів у стінці судин зі збільшенням тривалості менопаузи та прогресивним зниженням МЩКТ вказує на наявність спільної патогенетичної ланки між розвитком атеросклерозу та остеопорозу [11,13,21,25,31,36,37,40]. За результатами деяких досліджень зроблено висновок [41], що смертність унаслідок серцево-судинних захворювань асоціюється зі зниженою МЩКТ та переломами кісток. Це можна пояснити спільністю патофізіологічних механізмів та чинників ризику.

Підвищення рівнів холестерину ліпопротеїнів низької густини (ХС ЛПНГ), холестерину ліпопротеїнів дуже низької густини (ХС ЛПДНГ) та зниження рівня холестерину ліпопротеїнів високої густини (ХС ЛПВГ) мають важливе значення в процесі атерогенезу та впливають на зниження МЩКТ. Багато дослідників спостерігали кореляцію остеопоротичних змін у постменопаузальний період з індексом атерогенності, рівнями ХС ЛПНГ та ХС ЛПВГ [11,30,35,41].

Важливішим у теорії зв'язку атеросклерозу та остеопорозу є вплив значень показників ліпідного профілю на виникнення остеопоротичних переломів. У теперішній час існують протиріччя щодо наявності цих кореляцій. Так, у дослідженні, проведеному в Японії, оцінювалися співвідношення

між рівнями загального холестерину (ЗХ), ХС ЛПВГ, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ, тригліцеридів (ТГ), МЩКТ у поперековому відділі хребта та наявністю переломів в анамнезі [29]. Результат показав, що рівень ХС ЛПНГ мав негативну кореляцію з МЩКТ на рівні променевої кістки та поперекового відділу хребта. Навпаки рівень ХС ЛПВГ позитивно корелював із МЩКТ у тих же ділянках скелета. Рівень ТГ був значно нижчим у жінок із вертебральними переломами в анамнезі. Таким чином, дисліпідемія впливає на МЩКТ та є спільним чинником, який поєднує остеопороз та атеросклероз. Причиною цього може бути те, що окислені ліпіди низької густини можуть пригнічувати диференціацію остеобластів — *МСЗТЗ-Е1*-преостеобластів [24,30,38]. Існують також гіпотези про участь у цій варіації гена ферменту пароксонази 1 (*PON 1*), який надає антиоксидантні властивості ХС ЛПВГ [14].

За результатами дослідження [13] виявлено слабку кореляцію між показниками ліпідного профілю та МЩКТ, проте у пацієток із вертебральними переломами в анамнезі рівень ТГ був значно нижчий. Ризик виникнення перелому шийки стегнової кістки був значно вищим у жінок із прогресуючими захворюваннями серцево-судинної системи. Так, при вираженому атерокальцинозі МЩКТ була значно нижче на рівні всієї стегнової кістки ( $P < 0.001$ ) та поперекового відділу хребта ( $P < 0.001$ ). У жінок із прогресуючим атерокальцинозом спостерігалось збільшення частоти випадків вертебральних переломів та шийки стегнової кістки ( $P < 0.001$ ). Це дослідження показало, що обструкція судин унаслідок атерокальцинозу швидше, ніж рівень ліпідів та ліпопротеїнів, веде до зниження МЩКТ у ділянці шийки стегнової кістки.

Існують дослідження, які вказують на те, що частота виникнення демінералізації стегнової кістки вірогідно асоціюється із частотою розвитку атерогенезу та ризиком виникнення кардіоваскулярних подій у майбутньому [12,27]. Аналогічні результати було отримано в проведеному в Норвегії дослідженні у 2733 жінок віком 55–74 роки протягом 6 років. Воно показало, що ризик виникнення неverteброгенних переломів був вищим у пацієток із виявленими ехогенними включеннями на сонній артерії, ніж у жінок з інтактними судинами [26].

Деякі дослідники відзначають, що дистальні відділи променевої кістки не можуть корелювати з товщиною інтими-медії судин. Відсутність кореляції пояснюють тим, що до естрогенного дефіциту більш чутлива трабекулярна кісткова тканина, ніж кортикальна. Значну асоціацію між товщиною інтими-медії та МЩКТ у жінок із тривалістю менопаузи 10 років та більше було виявлено тільки у тих, хто не мав гіпертензії [39]. Проте існують дослідження, в результаті яких отримані протилежні результати [15].

Механізм, що поєднує атеросклероз і остеопороз, може бути також пов'язаний з естрогенним дефіцитом та впливом цитокінів, що характерно для менопаузи. Естрогени мають велике значення в розвитку як серцево-судинної патології, так і остеопорозу. Їх дія реалізується через

вплив на цитокіни типу інтерлейкінів (*IL-1*, *IL-6*), фактор некрозу пухлини (*TNF- $\alpha$* ) та остеопротегерин. Відомо, що *IL-6* стимулює остеокластогенез як через остеобласти, так і через остеокласти, що призводить до втрати кісткової маси [1,4,6,9].

Деякі матричні білки (колаген I типу, протеоглікан, остеопонтин, остеонектин, остеопротегерин) знайдені в кістках та судинних матричних компонентах середньої судинної оболонки (медії). Вони відіграють важливу роль у формуванні кісток та розвитку атеросклерозу [8,19].

Остеопротегерин (ОПГ) — циркулюючий секреторний глікопротеїн — є представником сімейства рецепторів *TNF*. Його головна функція — використовувати рецептори для активації рецепторів ліганда клітинного фактора *kB* (*RANK*). ОПГ протидіє індукованому з'єднанням *RANK* з *RANK*-лігандом (*RANKL*) остеокластогенезу, нейтралізуючи *RANKL*, пригнічуючи резорбцію кісткової тканини й збільшуючи її масу. Таким чином, його збільшення вказує на активізацію резорбції кісткової тканини. ОПГ виконує роль специфічного рецептора активації *kB*, який визначається на остеокластах і дендритних клітинах. *RANK* та ОПГ — початкові ланки для модуляції функції дендритних клітин, регуляції органогенезу лімфатичних вузлів та розвитку лімфоцитів. *In vitro* ОПГ з'являється під впливом розвитку та функції *B*-клітин, має протиоапоптозний ефект, який пов'язаний з індукцією *TNF* [33].

ОПГ секретується ендотеліальними та гладком'язовими клітинами судин. Його дефіцит призводить до остеопорозу і кальцифікації ниркових артерій та аорти. Введення ОПГ може протидіяти ураженням судин в експерименті. *In vitro* ОПГ пролонгує виживання ендотеліальних клітин, сповільнюючи апоптоз. Роль ОПГ при атеросклерозі у людей залишається ще невивченою [22].

Існують гіпотези, що зміни рівня ОПГ можуть провокувати судинні захворювання людей. Оскільки ОПГ продукується клітинами серцево-судинної системи (коронарні судини, гладком'язові та ендотеліальні клітини), вважається, що він може надавати захисні властивості судинам. Порушення продукції ОПГ може бути асоційоване із захворюваннями клітин. В одному з досліджень було визначено, що рівень ОПГ залежить від статі (у жінок він вище) та естрогенної насиченості [33].

Вважається, що протективна роль ОПГ підвищується при захворюваннях, які пов'язані з остеопорозом та інтерпретуються як антирегуляторний механізм протекції втрати кісткової маси [34]. Але досконально цей механізм залишається невивченим. Альтернативно запальний механізм та медіатори запалення (прозапальні цитокіни) можуть провокувати судинні захворювання та підвищувати рівень ОПГ. Прогресування атеросклеротичного процесу клінічно асоціюється зі втратою кісткової маси у постменопаузальних жінок. Остеопороз та кальцифікація артерій часто збігаються за характером прояву (що вказує на дисбаланс у перерозподілі кальцію із переважним спрямуванням в судинну стінку), а також обидва модулюються *RANK* та ОПГ [20].

Надзвичайно високий інтерес науковців до проблеми взаємозв'язку розвитку атеросклерозу та остеопорозу в менопаузі пояснюється бажанням отримати лікарські препарати, які б одночасно зменшували прояви атеросклерозу судин та підвищували МЩКТ. Існують поодинокі дані [14], що препарати (бісфосфонати), які підвищують МЩКТ, здатні пригнічувати атерогенез. У зв'язку з необхідністю корекції ранніх проявів атеросклерозу та сповільнення втрати МЩКТ перед лікарями виникає проблема вибору препаратів, які б впливали на обидва патогенетичні механізми, значно покращуючи результати лікування.

Мета роботи — вивчення зв'язку МЩКТ та стану ліпідного обміну у жінок у постменопаузі.

**Обстежувані та методи.** У відділі клінічної фізіології та патології опорно-рухового апарату Інституту геронтології АМН України було обстежено 52 жінки віком 41–82 роки в пре- та постменопаузальному періоді. Всіх пацієнток було розподілено на групи залежно від тривалості менопаузи: 1 — до 10 років ( $n = 17$ ), 2 — 10–19 років ( $n = 17$ ), 3 — понад 20 років ( $n = 18$ ).

За загальноприйнятими методиками визначали біохімічні показники ліпідного обміну: рівні ЗХ, ТГ, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ та ХС ЛПВГ.

Дослідження МЩКТ проводили методом *DXA* на апараті *Prodigy (GE DF +16430, США)*. За допомогою приладу визначали наступні параметри МЩКТ ( $\text{г}/\text{см}^2$ ): *T* (відхилення від референтного значення пікової кісткової маси практично здорових людей) та *Z* (відхилення від референтного значення кісткової маси практично здорових людей даної вікової групи) на ділянках всього скелета (МЩКТ ВС), поперекового відділу хребта  $L_1$ - $L_4$  (МЩКТ ПВ), стегнової кістки (МЩКТ СК), шийки стегнової кістки (МЩКТ ШСК), вертлюга стегнової кістки (МЩКТ ВСК), променевої кістки (МЩКТ ПК), діафіза променевої кістки (МЩКТ ДПК), ультрадис-тального відділу променевої кістки (МЩКТ УДПК).

Для оцінки впливу тривалості постменопаузи на МЩКТ і стан ліпідного обміну використовували однофакторний дисперсійний аналіз (*Anova*). Відмінності в денситометричних та біохімічних параметрах між групами залежно від тривалості постменопаузи визначали за допомогою критерію Шеффе.

**Результати та їх обговорення.** Основні клінічні характеристики, показники ліпідного обміну та МЩКТ у пацієнток обстежених груп представлені в таблиці, де показано, що у пацієнток 3 групи вірогідно підвищувався рівень ХС ЛПВГ (порівняно з жінками 1 групи) та знижувався рівень ХС ЛПНГ (порівняно з жінками 1 та 2 груп). При аналізі стану МЩКТ відзначалося вірогідне зменшення значень майже всіх показників зі збільшенням тривалості постменопаузального періоду.

При проведенні кореляційного аналізу в обстежених 1 групи виявлено вірогідні позитивні зв'язки між рівнем ЗХ та показниками *Z* у ділянці діа-



Зміни МЩКТ та стану ліпідного обміну залежно від тривалості менопаузи ( $M \pm \sigma$ )

Показник	До 10 років ( $n = 17$ )	10-19 років ( $n = 17$ )	Понад 20 років( $n = 18$ )	$F$	$P$
Вік, років	54,17 ± 5,7	65,41 ± 4,1*	71,83 ± 7,9*#	36,19	<0,00001
Тривалість менопаузи, років	4,64 ± 2,34	14,47 ± 3,5*	26,27 ± 5,4*#	125,6	<0,00001
ЗХ, ммоль/л	6,04 ± 1,25	6,13 ± 0,8	5,65 ± 1,2	1,08	0,3460
ТГ, ммоль/л	1,56 ± 0,43	1,31 ± 0,25*	1,42 ± 0,7	1,02	0,3672
ХС ЛПВГ, ммоль/л	1,29 ± 0,34	1,36 ± 0,34	1,56 ± 0,34*	2,89	0,06532
ХС ЛПНГ, ммоль/л	4,27 ± 0,93	4,09 ± 0,8	3,24 ± 1,2*#	<b>5,47</b>	<b>0,00716</b>
ХС ЛПДНГ, ммоль/л	0,78 ± 0,35	0,6 ± 0,12	0,64 ± 0,34	1,77	0,18136
МЩКТ ВС, г/см <sup>2</sup>	1,13 ± 0,1	1,02 ± 0,08*	0,98 ± 0,1*	<b>10,58</b>	<b>0,00016</b>
$T, \sigma$	-0,01 ± 1,35	-1,34 ± 1,02*	-1,96 ± 1,4*	<b>9,86</b>	<b>0,00027</b>
$Z, \sigma$	0,34 ± 0,9	5,43 ± 2,46*	-0,7 ± 1,14*	0,85	0,43506
МЩКТ ПВ, г/см <sup>2</sup>	1,1 ± 0,21	0,98 ± 0,14	0,97 ± 0,14	2,97	0,06087
$T, \sigma$	-0,7 ± 1,8	-1,7 ± 1,14	-1,8 ± 1,2*	2,89	0,06526
$Z, \sigma$	-0,05 ± 1,48	-0,43 ± 1,15	-0,44 ± 1,38	0,45	0,64051
МЩКТ ШСК, г/см <sup>2</sup>	0,92 ± 0,15	0,8 ± 0,1*	0,73 ± 0,12*	<b>9,57</b>	<b>0,00032</b>
$T, \sigma$	-0,9 ± 1,08	-1,7 ± 0,8*	-2,3 ± 0,96*	<b>9,38</b>	<b>0,00036</b>
$Z, \sigma$	-0,03 ± 0,8	-0,5 ± 0,68	-0,68 ± 0,93*	2,66	0,08044
МЩКТ ВСК, г/см <sup>2</sup>	0,82 ± 0,11	0,72 ± 0,09*	0,6 ± 0,12*#	<b>16,26</b>	<b>&lt;0,00001</b>
$T, \sigma$	-0,29 ± 0,98	-1,17 ± 0,84*	-2,26 ± 1,04*#	<b>17,93</b>	<b>&lt;0,00001</b>
$Z, \sigma$	0,26 ± 0,84	-0,29 ± 0,8	-1,0 ± 1,01*#	<b>8,68</b>	<b>0,00060</b>
МЩКТ СК, г/см <sup>2</sup>	0,98 ± 0,15	0,84 ± 0,11*	0,76 ± 0,13*#	<b>13,54</b>	<b>0,00002</b>
$T, \sigma$	-0,23 ± 1,15	-1,3 ± 0,9*	-2,01 ± 1,0*	<b>13,11</b>	<b>0,00003</b>
$Z, \sigma$	0,32 ± 0,96	-0,39 ± 0,89	-0,66 ± 0,97*	<b>4,84</b>	<b>0,01220</b>
МЩКТ ДПК, г/см <sup>2</sup>	0,66 ± 0,07	0,56 ± 0,05*	0,54 ± 0,11*	<b>10,41</b>	<b>0,00017</b>
$T, \sigma$	-0,81 ± 1,01	-2,21 ± 0,73*	-2,53 ± 1,67*	<b>9,40</b>	<b>0,00036</b>
$Z, \sigma$	-0,19 ± 1,0	-0,71 ± 0,66	-0,82 ± 1,47	1,52	0,22838
МЩКТ УДПК, г/см <sup>2</sup>	0,35 ± 0,06	0,31 ± 0,05	0,26 ± 0,06*#	<b>9,15</b>	<b>0,00043</b>
$T, \sigma$	-0,89 ± 1,61	-1,73 ± 1,42	-3,23 ± 1,71*#	<b>9,51</b>	<b>0,00033</b>
$Z, \sigma$	-0,26 ± 1,54	-0,51 ± 1,23	-1,51 ± 1,69*	3,38	0,04246
МЩКТ ПК, г/см <sup>2</sup>	0,51 ± 0,06	0,46 ± 0,06*	0,40 ± 0,07*#	<b>10,16</b>	<b>0,00021</b>
$T, \sigma$	-0,86 ± 1,27	-0,83 ± 1,28*	-3,01 ± 1,62*#	<b>9,85</b>	<b>0,00026</b>
$Z, \sigma$	-0,23 ± 1,24	-0,64 ± 1,0	-1,29 ± 1,4*	3,13	0,05267

Примітки: \* —  $P < 0,05$  порівняно з тривалістю менопаузи до 10 років, # —  $P < 0,05$  порівняно з тривалістю менопаузи 10–19 років.

фізу променевої кістки ( $P = 0,03$ ) та на рівні всієї променевої кістки ( $P = 0,03$ ). У пацієток 2 групи відзначалася негативна кореляція рівня ЗХ із  $Z$ -показником на рівні шийки стегнової кістки ( $P = 0,02$ ), вертлюга ( $P = 0,02$ ), а також з МЩКТ стегнової кістки ( $P = 0,04$ ),  $T$ - та  $Z$ -показниками ( $P = 0,04$  та  $0,002$ , відповідно) на рівні стегнової кістки. Навпаки, у жінок 3 групи спостерігали вірогідну позитивну кореляцію рівня ЗХ з  $T$ - та  $Z$ -показниками на рівні всього скелета ( $P = 0,02$ ), з МЩКТ — на рівні шийки стегнової кістки ( $P = 0,04$ ),  $T$ - та  $Z$ -показниками — на рівні діафізу променевої кістки ( $P = 0,02$  та  $0,04$ , відповідно).

У пацієток 1 та 2 груп не було виявлено вірогідної кореляції між рівнем ТГ та денситометричними показниками. Навпаки, в обстежених 3 групи рівень ТГ позитивно корелював з  $T$ - та  $Z$ -показниками ( $P = 0,001$  та  $0,041$ , відповідно) на рівні всього скелета, з МЩКТ та  $T$ -показником ( $P = 0,001$ ) — на рівні шийки стегнової кістки, з МЩКТ та  $T$ -показником ( $P = 0,01$ ) — на рівні вертлюга, з МЩКТ та  $T$ -показником ( $P = 0,001$  та  $0,0001$ , відповідно) — на рівні всієї стегнової кістки, з МЩКТ ( $P = 0,04$ ) та  $T$ -показником ( $P = 0,05$ ) — на рівні діафіза променевої кістки, з МЩКТ,  $T$ - та  $Z$ -показниками ( $P = 0,0001$ ) — на рівні ультрадистального відділу, з МЩКТ ( $P = 0,004$ ),  $T$ - та  $Z$ -показниками ( $P = 0,005$  та  $0,01$ , відповідно) — на рівні всієї променевої кістки.

В обстежених 1 та 2 груп вірогідних кореляцій не було визначено, тоді як у жінок 3 групи відзначалася негативна кореляція рівня ХС ЛПВГ з МЩКТ у ділянці діафіза променевої кістки ( $P = 0,04$ ), з МЩКТ ( $P = 0,02$ ) та показником  $T$  ( $P = 0,03$ ) — у ділянці ультрадистального відділу променевої кістки, з МЩКТ ( $P = 0,008$ ) та показником  $T$  ( $P = 0,01$ ) — у ділянці променевої кістки.

У жінок 1 групи кореляційним аналізом виявлено вірогідні зв'язки між рівнем ХС ЛПНГ та МЩКТ у ділянці діафіза променевої кістки ( $r = 0,26$ ,  $P = 0,045$ ), у жінок 3 групи — з показником  $T$  на рівні всього скелета ( $r = 0,58$ ,  $P = 0,011$ ). У жінок 2 групи виявлено негативну кореляцію рівня ХС ЛПНГ з МЩКТ ( $r = -0,51$ ,  $P = 0,039$ ), з показниками  $T$  ( $r = -0,50$ ,  $P = 0,043$ ) і  $Z$  ( $r = -0,77$ ,  $P = 0,003$ ) у ділянці вертлюга, з МЩКТ ( $r = -0,56$ ,  $P = 0,019$ ), показниками  $T$  ( $r = -0,56$ ,  $P = 0,020$ ) і  $Z$  ( $r = -0,78$ ,  $P = 0,0002$ ) — у ділянці всієї стегнової кістки.

У жінок 1 групи виявлено позитивну кореляцію рівня ХС ЛПДНГ з показником  $Z$  у ділянці вертлюга стегнової ( $r = 0,68$ ,  $P = 0,003$ ) та всієї стегнової ( $r = 0,52$ ,  $P = 0,038$ ) кістки. У жінок 3 групи спостерігали позитивні кореляції рівня ХС-ЛПДНГ з показником  $T$  на рівні всього скелета ( $r = 0,76$ ,  $P = 0,0001$ ), з МЩКТ ( $r = 0,73$ ,  $P = 0,001$ ) та показником  $T$  ( $r = 0,70$ ,  $P = 0,001$ ) — у ділянці шийки стегнової кістки, з МЩКТ ( $r = 0,58$ ,  $P = 0,012$ ) та показником  $T$  ( $r = 0,64$ ,  $P = 0,005$ ) — у ділянці вертлюга стегнової кістки, з МЩКТ ( $r = 0,74$ ,  $P = 0,0001$ ) та показником  $T$  ( $r = 0,77$ ,  $P = 0,0001$ ) — у ділянці всієї стегнової кістки, з МЩКТ ( $r = 0,85$ ,  $P = 0,0001$ ), показниками  $T$  ( $r = 0,86$ ,  $P = 0,0001$ ) та  $Z$  ( $r = 0,75$ ,  $P = 0,0001$ ) — у ділянці

ультрадистального відділу променевої кістки, з МЩКТ ( $r = 0,65$ ,  $P = 0,003$ ), показниками  $T$  ( $r = 0,64$ ,  $P = 0,004$ ) та  $Z$  ( $r = 0,58$ ,  $P = 0,012$ ) — у ділянці всієї променевої кістки.

Проведений дисперсійний аналіз у жінок у постменопаузальному періоді виявив вірогідний вплив тривалості менопаузи тільки на зміни рівня ХС ЛПНГ; разом з тим, збільшення тривалості постменопаузального періоду призводило до зниження значень практично всіх денситометричних показників (див. табл.). Проте не було виявлено вірогідних відмінностей між групами стосовно МЩКТ на рівні поперекового відділу хребта  $L_1-L_4$ .

Криві лінійної регресії, які демонструють зв'язок між показниками МЩКТ у ділянках стегнової, променевої кісток та ХС ЛПНГ у жінок у постменопаузальному періоді залежно від його тривалості, відображені на рис. 1–3. Так, у групі пацієнок із тривалістю менопаузи до 10 років відзначалося незначне збільшення значень МЩКТ з підвищенням рівня ХС ЛПНГ у ділянці променевої кістки. Проте в групі жінок з тривалістю постменопаузального періоду 10–19 років спостерігалася зворотня залежність: з підвищенням рівня ХС ЛПНГ знижувалася МЩКТ у ділянці стегнової кістки. У жінок із тривалістю менопаузи понад 20 років відзначалася позитивна кореляція між МЩКТ та ХС ЛПНГ (див. рис. 1–3).

Існують відмінності щодо зв'язків між показниками ліпідного обміну та денситометричними характеристиками структурно-функціонального стану кісткової тканини впродовж постменопаузального періоду. Так, у перші 10 років відзначаються слабкі зв'язки між показниками, що характе-

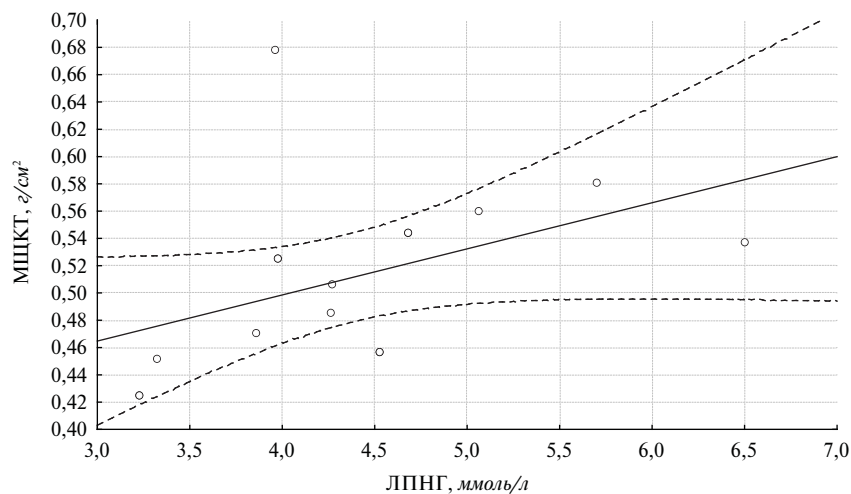


Рис. 1. Зв'язок між МЩКТ у ділянці променевої кістки та рівнем ХС ЛПНГ у жінок із тривалістю постменопаузального періоду до 10 років. Рівняння лінійної регресії:  $\text{МЩКТ} = 0,47 - 0,04\text{ХС ЛПНГ}$  ( $r = 0,26$ ,  $P = 0,04$ ).

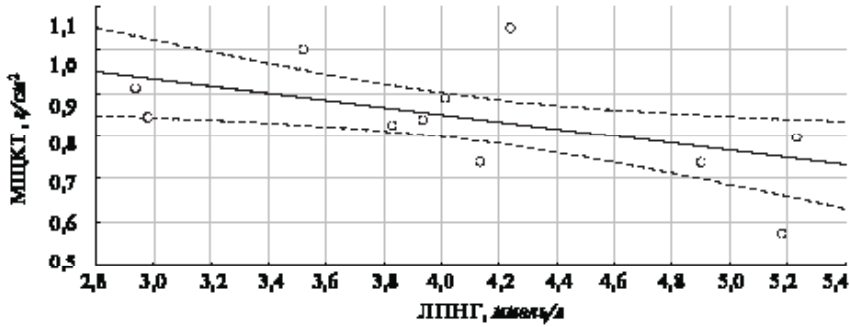


Рис. 2. Зв'язок між МЩКТ у ділянці стегнової кістки та рівнем ХС ЛПНГ у жінок із тривалістю постменопаузального періоду 10–19 років. Рівняння лінійної регресії:  $\text{МЩКТ} = 1,18 - 0,08\text{ХС ЛПНГ}$  ( $r = 0,31$ ,  $P = 0,01$ ).

ризують МЩКТ та ліпідний обмін, які не можуть розглядатися як вагомі. Зі збільшенням тривалості менопаузи (10–19 років) визначається сильна негативна кореляція між рівнями ЗХ, ХС ЛПНГ та МЩКТ у ділянці стегнової кістки, а при тривалості постменопаузи понад 20 років майже на всіх ділянках кісткової тканини відзначаються сильні позитивні кореляції з рівнями ЗХ, ТГ та атерогенними фракціями ліпопротеїнів, а також негативні — з ХС ЛПВГ.

Аналіз зв'язку дисліпидемії та МЩКТ у постменопаузі розглядає можливість створення алгоритмів ведення жінок у цей особливий період життя. Враховуючи спільність чинників ризику розвитку серцево-судинної патології та остеопорозу в постменопаузі та наявність між ними зв'язків за

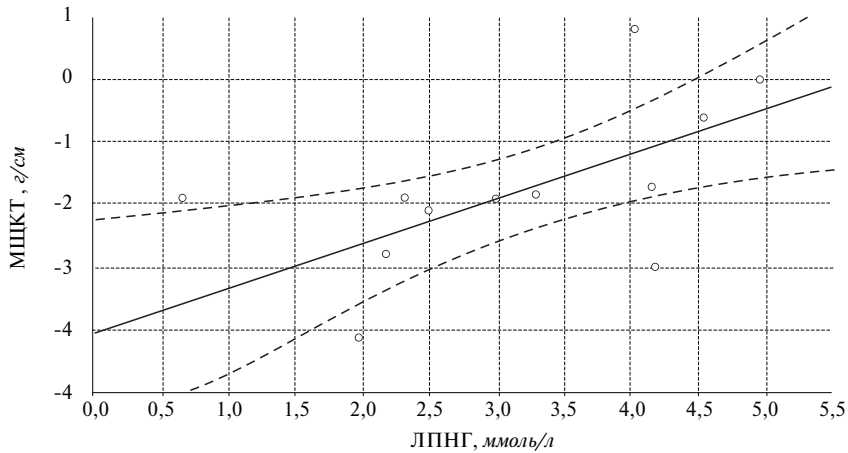


Рис. 3. Зв'язок між МЩКТ у ділянці стегнової кістки та рівнем ХС ЛПНГ у жінок із тривалістю постменопаузального періоду понад 20 років. Рівняння лінійної регресії:  $\text{МЩКТ} = -4,04 + 0,71\text{ХС ЛПНГ}$  ( $r = 0,58$ ,  $P = 0,01$ ).

результатами наших експериментальних і клінічних досліджень, не виникає сумнівів щодо необхідності диференційованого підходу до зниження ризику виникнення ускладнень — серцево-судинних катастроф та переломів.

Важливим у питаннях профілактики є те, що зі збільшенням тривалості менопаузи понад 10 років спостерігаються негативні кореляції між рівнями ЗХ, ХС ЛПНГ та МЩКТ у ділянці стегнової кістки, переломи якої призводять до інвалідності та передчасної смерті. У той же час, найбільш вагомими чинниками розвитку атеросклерозу є підвищення рівнів ЗХ, ТГ та атерогенних ХС ЛПНГ зі зниженням ХС ЛПВГ, які підвищують ризик виникнення фатальних кардіальних катастроф. Слід відзначити, що результати досліджень [11,30,35] також виявили негативну кореляцію між ХС ЛПНГ та МЩКТ на рівні стегнової кістки, а в роботі [41] вона визначалася на рівні променевої кістки та поперекового відділу хребта.

Наше дослідження виявило неоднорідність впливу змін ліпідного обміну на стан МЩКТ залежно від тривалості постменопаузального періоду. Так, з його збільшенням понад 20 років відзначаються позитивні кореляції між МЩКТ і рівнями ЗХ, ТГ, ХС ЛПДНГ та негативна — з рівнем ХС ЛПВГ у ділянках променевої та стегнової кісток. Отримані дані вказують на появу в цей період життя жінок інших, більш вагомих механізмів зміни стану судин, ніж дисліпідемія, — розвиток атероматозу та атерокальцинозу.

Практичне використання отриманих нами результатів полягає у застосуванні статинів у жінок у постменопаузальному періоді як засобів корекції дисліпідемії з метою профілактики розвитку атеросклерозу (особливо при тривалості менопаузи 10–19 років) та потребує наступного вивчення їх впливу на структурно-функціональний стан кісткової тканини. Також доцільним, на наш погляд, є вивчення впливу деяких антирезорбентів (бісфосфонатів, стронцію ренегату) на процеси атерогенезу судин.

### Література

1. *Бутенко Г. М.* Остеопороз и иммунная система // Пробл. остеологии. — 1999. — № 3. — С. 23–28.
2. *Верткин А. Л., Наумов А. В., Максименкова Е. В.* Распространенность факторов риска и клинических маркеров остеопороза в клинике внутренних болезней // Лечащий врач. — 2006. — № 2. — С. 69–72.
3. *Марцевич С. Ю.* Ингибитор ангиотензинпревращающего фермента лизиноприл: особенности применения в кардиологии с учетом данных доказательных исследований // Рос. кардиол. журн. — 2004. — № 3. — С. 55–57.
4. *Насонов Е. Л.* Иммунологические маркеры атеросклероза // Терапевт. архив. — 2002. — № 5. — С. 80–85.
5. *Одушко Н. П.* Взаимосвязь изменений липидного состава сыворотки крови и субклеточных фракций печени под влиянием атерогенной диеты // Вопросы питания. — 1982. — № 2. — С. 52–55.
6. *Поворознюк В. В., Григор'єва Н. В.* Менопауза та остеопороз. — К.: Експрес, 2004. — 356 с.

7. *Серкова В.* Роль цитокинов в развитии хронической сердечной недостаточности: новые аспекты патогенеза и лечения // *Діагностика та лікування ХХІ століття.* — 2004. — № 6. — С. 65–67.
8. *Хьюстон М.* Сосудистая биология в клинической практике. — Львов: Видавництво «Мс», 2007. — 166с.
9. *Чуклин С. Н., Переяслов А. А.* Интерлейкины — Львов: Лига-Пресс. — 2005. — 481 с.
10. *Ярема Н.І., Рудик Б.І.* Мінеральна щільність кісткової тканини і атерогенність ліпідів у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію // *Укр. кардіол. журн.* — 2004. — № 5. — С. 42–45.
11. *Adami S., Braga V.* Relationship between lipids and bone mass in 2 cohorts of healthy women and men // *Calcif. Tissue Int.* — 2004. — **74**, № 2. — P. 136–142.
12. *Bagger Y. Z., Rasmussen H. B.* Link between cardiovascular disease and osteoporosis in postmenopausal women: serum lipids or atherosclerosis per se? // *Osteoporosis Int.* — 2007. — **18**. — P. 505–512.
13. *Bagger Y. Z., Tanko L. B.* Radiographic measure of aorta calcification is a sitespecific predictor of bone loss and fracture risk at the hip // *J. Intern. Med.* — 2006. — **259**, № 6. — P. 598–605.
14. *Baldini V., Mastropasqua M.* Cardiovascular disease and osteoporosis // *J. Endocrinol. Invest.* — 2005. — **28**. — P. 69–72.
15. *Brownbill R. A., Illich J. Z.* Lipid profile and bone paradox: higher serum lipids are associated with higher bone mineral density in postmenopausal women // *J. Womens Health.* — 2006. — **15**. — P. 261–270.
16. *Chakko S., Mulingtapang R. F.* Alterations in heart rate variability and its circadian rhythm in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy free of coronary artery disease // *Amer. Heart J.* — 1993. — **126**. — P. 1364–1372.
17. *Edling O., Bao G.* Moexipril, a new angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor: pharmacological characterization and comparison with enalapril // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1995. — **275**. — P. 854–863.
18. *Farhat G. N., Strotmeyer E. S., Newman A. B. et al.* Volumetric and areal bone mineral density measures are associated with cardiovascular disease in older men and women: the health, aging and body composition study // *Calcif. Tissue Int.* — 2006. — **79**. — P. 102–111.
19. *Farlane M., Muniyappa R.* Osteoporosis and cardiovascular disease: brittle bones and banded arteries, is there a link? // *Bone.* — 2004. — **34**, № 3. — P. 432–442.
20. *Hamerman D.* Osteoporosis and atherosclerosis: biological linkages and the emergence of dual-purpose therapies // *QJM.* — 2005. — **98**, № 7. — P. 467–484.
21. *Hofbauer L. C., Brueck C. C.* Vascular calcification and osteoporosis—from clinical observation towards molecular understanding // *Osteoporosis Int.* — 2007. — **18**. — P. 251–259.
22. *Hofbauer L. C., Schoppert M.* Osteoprotegerin: a link between osteoporosis and arterial calcification? // *Lancet.* — 2006. — **358**. — P. 257–259.
23. *Isidori A. M., Giannetta E.* Androgens, cardiovascular disease and osteoporosis // *J. Endocrinol. Invest.* — 2005. — **28**, № 10. — P. 73–79.
24. *Jamada Y., Ando F.* Association of polymorphism of paraoxonase 1 and 2 genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese // *J. Hum. Genet.* — 2003. — **48**. — P. 469–475.
25. *John R., Candace M.* Decreased bone mineral density is correlated with increased subclinical atherosclerosis in older, but not younger, Mexican American women and men: The San Antonio family // *Calcif. Tissue Int.* — 2007. — **81**. — P. 430–441.

26. *Jorgensen L., Joakimsen O.* Carotid plaque echogenicity and risk of nonvertebral fractures in women: a longit udinal population-based study // *Calcif. Tissue Int.* — 2006. — **79**, № 4. — P. 207–213.
27. *Kado D. M., Browner W. S.* Rate of bone loss is associated with mortality in older women: a prospective study // *J. Bone Miner. Res.* — 2000. — **15**, № 10. — P. 1974–1980.
28. *Lorenz M. W., Markus H. S.* Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis // *Circulation.* — 2007. — **115**. — P. 459–467.
29. *Parhami F., Mody N.* Role of the cholesterol biosynthetic pathway in osteoblastic differentiation of mirrow stromal cells // *J. Bone Miner. Res.* — 2002. — **17**, № 11. — P. 1997–2003.
30. *Parhami F., Morrow A. D.* Lipid oxidation products have opposite effect on calcifying vascular cell and bone cell differentiation in osteoporotic patients // *Arteriosc. Thromb. Vasc. Biol.* — 1997. — **17**. — P. 680–687.
31. *Pennisi P., Signorelli S. S.* Low bone density and abnormal bone turnover in patients with atherosclerosis of peripheral vessels // *Osteoporosis Int.* — 2004. — **15**. — P. 389–395.
32. *Pruss D. I., Stinpel M.* For Investigators of the MADAM-program. Blood pressure response and safety profile of moexipril and nitredipine in postmenopausal hypertensive women // *Hypertension.* — 1997. — **29**. — P. 844.
33. *Schoppet M., Sattler A.* Increased Osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* — 2003. — **88**, № 3. — P. 1024–1028.
34. *Schoultz E., Afrai K.* Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* — 2004. — **89**, № 9. — P. 4246–4253.
35. *Solomon D. H., Avorn J., Canning C. F., Wang P. S.* Lipid levels and bone mineral density // *Am. J. Med.* — 2005. — **118**, № 12. — P. 1414.
36. *Tamaki J., Iki M.* Low bone mass is associated with carotid atherosclerosis in postmenopausal women: The Japanese population-based Osteoporosis (JPOS) Cohort Study // *Osteoporosis Int.* — 2009. — **20**. — P. 53–60.
37. *Tanko L. B., Christiansen C.* Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women // *JBMR.* — 2005. — **20**. — P. 1012–1920.
38. *Tintut Y., Morony S.* Hyperlipidemia promotes osteoclastic potential of bone marrow cel ex vivo // *Arteriosc. Thromb. Vasc. Biol.* — 2004. — **24**, № 2. — P. e6–e10.
39. *Uyama O., Yoshimoto Y.* Bone exchanges and carotid atherosclerosis in postmenopausal women // *Stroke.* — 1997. — **28**. — P. 1730–1732.
40. *Yamada S., Inaba M.* Associations between physical activity, peripheral atherosclerosis and bone status in healthy Japanese women // *Atherosclerosis.* — 2006. — **188**. — P. 196–202.
41. *Yamaguchi T., Sugimoto T.* Plasma lipids and osteoporosis in postmenopausal women // *Endocr. J.* — 2002. — **49**, № 2. — P.211–217.

Надійшла 18.11.2009

## **A LINK BETWEEN BONE MINERAL DENSITY AND PROFILE OF LIPID METABOLISM OF WOMEN DEPENDING ON DURATION OF POSTMENOPAUSE**

**V. V. Povoroznyuk, O. I. Nishkumay\***

State Institution “D. F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine”,  
04114 Kyiv

\*Lugansk State Medical University Ministry of Health Ukraine,  
91045 Lugansk

Fifty-two women aged 41–82 were subdivided into groups based on duration of postmenopause period: group I ( $n = 17$ ) — <10 years, group II ( $n = 17$ ) — 10–19 years, group III ( $n = 18$ ) — 20+ years. The results obtained showed insignificant correlation between the indices which characterize bone mineral density (BMD) and lipid metabolism in group I. Marked negative correlation was found between the levels of total cholesterol, cholesterol of low density lipoproteins and BMD of femoral bone with the increase of menopause period (group II). In women of group III, a significant positive correlation was found between BMD and total cholesterol, triglycerides and atherogenic fractions of lipoproteins and negative correlation — between BMD and the level of cholesterol of high-density lipoproteins in almost all parts of the osseous tissue.



## ЗМІНИ МІКРОБНОГО ПЕЙЗАЖУ МОКРОТИННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ НА ФОНІ ДИСБІОЗУ КИШЕЧНИКА ЗА УМОВ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНОГО УРАЖЕННЯ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНИХ АРТЕРІЙ

К. В. Рихліцька, М. Ю. Коломоєць

Буковинський державний медичний університет МОЗ України,  
58000 Чернівці

З метою встановлення впливу мікроекології порожнини товстої кишки на контамінацію умовно-патогенною мікрофлорою дихальних шляхів було обстежено 79 хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) із супутнім атеросклеротичним ураженням мезентеріальних артерій. Встановлено, що внаслідок порушень мікробного пейзажу порожнини товстої кишки у хворих на ХОЗЛ як з інфекційним, так і неінфекційним типом загострення в мокротинні зростає контамінація грам-негативних бактерій (у тому числі умовно-патогенних штамів *E. coli* та дріжджеподібних грибків роду *Candida*) на фоні переважання кокової флори. Розвиток дисбіозу кишечника у хворих на ХОЗЛ на тлі атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій обумовлює необхідність його диференційованого лікування з метою профілактики можливих подальших порушень колонізаційної та загальної резистентності організму.

**Ключові слова:** хронічне обструктивне захворювання легень, дисбіоз, товстий кишечник, атеросклеротичне ураження мезентеріальних артерій.

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) поширено серед осіб літнього та старечого віку. Епідеміологічні дослідження останніх 10 років свідчать про неухильне зростання кількості ХОЗЛ серед осіб у віці 65 років і старше. Поширеність цієї форми патології дихальних шляхів становить від 7 до 34 % у чоловіків і від 6 до 15 % у жінок, що обумовлено не лише віковими змінами дихальної системи, але й поліморбідністю, в умовах якої відбувається формування основного симптомокомплексу ХОЗЛ [2,3,10]. Генералізація атеросклеротичного процесу із залученням непарних гілок черевної аорти призводить до ішемізації товстої кишки, виникнення дисбіозу із формуванням постійного ендогенного вогнища інфекції, маскування клінічної симптоматики та декомпенсації основного захворювання [8].

Концепція активної участі симбіотичної мікрофлори людини у підтриманні здоров'я та виникненні багатьох захворювань завойовує все більшу популярність. Дисбіоз слід розглядати як складну багатокомпонентну систему, яка функціонує за типом токсико-інфекційного вогнища та здатна до активного порушення (модуляції) обмінних процесів в організмі людини. Це створює оптимальні умови для персистенції патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів на слизових оболонках порожнин хазяїна. При всьому розмаїтті провокуючих чинників саме інфекцію розглядають як основну причину загострення ХОЗЛ, яка, за даними більшості авторів, зумовлює 50–78 % випадків усіх загострень. Хронічна колонізація умовно-патогенними мікроорганізмами поглиблює хронічну запальну відповідь та сприяє таким чином формуванню хибного кола в патогенезі ХОЗЛ. Бактеріальні агенти в дихальних шляхах індукують гіперчутливість та сприяють їх гіперреактивності [5,6,9].

Мета роботи — встановлення впливу мікроекології порожнини товстої кишки на контамінацію умовнопатогенною мікрофлорою дихальних шляхів хворих на ХОЗЛ за умов атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій.

**Обстежувані та методи.** Під спостереженням знаходилося 79 хворих на ХОЗЛ віком від 56 до 82 років, які дали згоду на проведення обстеження та лікування, що здійснювалось у Чернівецькому обласному госпіталі для інвалідів війни. Відповідно до класифікації *N. R. Anthonisen*. та співавт. [7], I тип загострення ХОЗЛ (наявність 3 основних його симптомів — посилення задишки, збільшення гнійності та кількості мокротиння) мав місце у 57 хворих, II тип (наявність 2 із 3 вищенаведених симптомів) — у 22 хворих. У цілому задишка посилилась у 98,1 %, хворих, гнійний характер мокротиння з'явився або посилювався у 87,0 %, об'єм харкотиння збільшився у 84,3 % хворих. Крім того, кашель посилювався у 94,4 % пацієнтів, температура підвищилась до 37–38°C у 51,2 %. Об'єм форсованого видиху за першу секунду ( $\text{ОФВ}_1$ ) становив 80 % від належних величин (I стадія ХОЗЛ) у 26,7 % хворих, 50 %  $\text{ОФВ}_1 < 80$  % від належних величин (II стадія ХОЗЛ) — у 63,3 % хворих та 30 %  $\text{ОФВ}_1 < 50$  % від належних величин (III стадія

ХОЗЛ) — у 10 % хворих. Давність захворювання на ХОЗЛ становила ( $10 \pm 5$ ) років.

Згідно з наказом МОЗ України № 128 “Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю “Пульмонологія”, обов’язковим методом верифікації ХОЗЛ проведено дослідження функції зовнішнього дихання за допомогою спірографії з визначенням ОФВ1, форсованої життєвої ємності легень, а також рентгенологічне дослідження органів грудної клітки і мікробіологічне дослідження мокротиння.

Діагноз “атеросклеротичне ураження мезентеріальних артерій” встановлювали за характером больового синдрому, чинниками, що провокують його (чіткий зв’язок із прийомом та кількістю їжі), ефективністю судинно-розширювальних засобів, нітропрепаратів, за наявністю дисфункції кишечника та систолічного шуму в епігастрію. Стан прохідності черевного стовбура та верхньої мезентеріальної артерії вивчали методом кольорової доплерографії за допомогою ультразвукового діагностичного приладу АЧ4 *Idea* № 20137 *Biomedica* (Італія) за загальноприйнятими методиками [8].

Для дослідження порожнинної мікрофлори товстої кишки використовували методичні рекомендації «Мікробіологічна діагностика дисбактеріозів» МОЗ УРСР (1986 р.). Кількісний та якісний склад мікрофлори кишечника вивчали шляхом засіву десятикратних розведень 1 г випорожнень на диференційно-діагностичні живильні середовища [1]. Дисбіоз визначали за наступними ознаками:

- виявлення біфідобактерій в розведенні випорожнень нижче  $10^{-8}$ ,
- збільшення кількості лактозонегативних ешеріхій понад 10 % від загальної кількості ешеріхій,
- поява гемолітичної мікрофлори,
- виявлення умовно-патогенних грам-негативних паличок (протея, клебсієли, цитробактер, псевдомонади та ін.) у розведенні понад  $10^{-4}$  у 1 г випорожнень,
- виявлення грибків роду *Candida* у розведенні понад  $10^{-3}$  в 1 г випорожнень,
- виявлення золотистого стафілококу у розведенні понад  $10^{-4}$  в 1 г випорожнень,
- збільшення (понад 200 млн./г) або зниження (<1 млн./г) кількості кишкової палички.

Абсолютну кількість мікроорганізмів виражали у десятковому логарифмі колонійутворюючих одиниць (КУО) на 1 г випорожнень [1]. При верифікації ступеня дисбіозу використовували класифікацію за І. Б. Кулаєвою та К. С. Ладодо (цит. за [4]).

Мікробіологічне дослідження мокротиння здійснювали згідно з наказом МОЗ УРСР № 535 від 22 квітня 1985 р. Для дослідження відбирали 1 мл мокротиння, який додавали до 9 мл поживного бульйону або до 2 % пептонної води (розведення 1:9,  $10^{-1}$ ) та гомогенізували у банці протягом 20 хв.

З отриманої емульсії готували серійні розведення в бульйоні до  $10^{-7}$ . Матеріал засівали в об'ємі 0,1 мл на чашку з 5 % кров'яним агаром, Ендо та середовищем Сабуро. Інкубацію проводили протягом доби при  $37^{\circ}\text{C}$ . На 2 добу чашки оглядали та підраховували кожен вид мікроорганізмів. Кількість мікроорганізмів визначали в максимальному розведенні мокротиння, в якому вдалось виявити даний вид бактерій. Для оцінки кількісного росту мікроорганізмів та їх асоціацій використовували наступні критерії: 1 — дуже скудний ріст одиничних колоній (до 10), 2 — скудний ріст (10–25 колоній), 3 — помірний ріст множинних поєднаних колоній (не менше 50), 4 — рясний (тотальний) ріст колоній. 3 та 4 інтенсивності росту зазвичай вказують на розвиток захворювання, 1 та 2 — на носійство та контамінацію. При дослідженні біологічних властивостей штамів стафілокока та стрептокока вивчали їх ріст на живильних середовищах, морфологічні особливості, здатність до коагуляції плазми, ферментувати маніт та викликати гемоліз. Патогенність оцінювали за реакцію плазмокоагуляції.

Отримані дані оцінювали за  $t$ -критерієм Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Аналіз бактеріограм вмісту порожнини товстої кишки у хворих на ХОЗЛ із супутнім атеросклеротичним ураженням мезентеріальних артерій та порушенням видового складу і популяційного рівня мікрофлори цієї порожнини дозволив встановити дисбіоз різного ступеня тяжкості (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл хворих на ХОЗЛ з різними типами загострення за ступенем тяжкості кишкового дисбіозу, %

Ступінь тяжкості	Неінфекційне загострення	Інфекційне загострення
I	5	11,5
II	28	17,5
III	67	71
IV	0	0

У 66,6 % хворих на ХОЗЛ має місце елімінація облигатних біфідобактерій. Крім того, настає виражена контамінація порожнини товстої кишки патогенними (гемолітичними та ентеропатогенними) кишковими паличками, умовно-патогенними ентеробактеріями (цитробактером, ентеробактером, гафніями, клебсієлами та серраціями), умовно-патогенними стафілококами та дріжджеподібними грибками роду *Candida* та пептококами. Пептокок, клостридії та протей набувають перманентного характеру.

Найбільш фізіологічно корисні автохтонні облигатні біфідобактерії характеризуються або повною елімінацією із порожнини товстої кишки або мають вкрай низький (на 5 порядків нижче відносно контролю) популяцій-

ний рівень. На фоні глибокого дефіциту автохтонних облигатних та факультативних бактерій зростає популяційний рівень автохтонних факультативних превотел, пептокока, клостридій. Крім того, настає контамінація порожнини товстої кишки патогенними (гемолітичними та ентеропатогенними) кишковими паличками та умовно-патогенними ешерихіями, які досягають високого популяційного рівня — понад  $(8,68 \pm 0,03)$  lg КУО/г. Умовно-патогенні стафілококи та дріжджеподібні грибки роду *Candida* також контамінують порожнину товстої кишки і досягають  $(5,67 \pm 0,03)$  lg КУО/г популяційного рівня.

У частини хворих (47,8 %) на ХОЗЛ, у яких встановлено тяжкий перебіг основного захворювання, формується порушення кишкового мікробіоцинозу у вигляді дисбіозу II–III ступеня. Вищевказане виникає за рахунок вираженого дефіциту автохтонних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів, зростання популяційного рівня пептокока та сульфидредуючих клостридій. На такому фоні настає контамінація порожнини товстої кишки умовно патогенними ентеробактеріями, появою гемолітичних штамів кишкової паличками, пептококів, а також грибками роду *Candida*.

Контамінація гемолітичними та ентеропатогенними кишковими паличками, які виявляються у великій кількості, засвідчує наявність інтоксикації ентеротоксинами поряд з інтоксикацією ендотоксинів умовно-патогенних бактерій та дріжджеподібних грибків роду *Candida*, що свідчить не лише про вираженість кишкового дисбіозу, але й про зниження активності неспецифічної системи протиінфекційного захисту, порушення гуморальної і клітинної відповіді на підвищену антиантигенну мікробну стимуляцію. Зниження кровопостачання товстої кишки за умов атеросклеротичного ураження черевного стовбура аорти, верхньої та нижньої мезентеріальних артерій, на нашу думку, є додатковим чинником поглиблення дисбіотичних змін у порожнині товстої кишки.

У зв'язку з цим виявилось необхідним дослідити стан мікроекології слизової оболонки бронхів у хворих на ХОЗЛ з різним типом загострення. Проведено також паралельне дослідження вмісту бронхів, отриманого при бронхоскопії.

Із вмісту бронхів було виділено 12 культур. Мікроорганізми в біо-субстратах, отриманих від хворих з загостренням ХОЗЛ на фоні кишкового дисбіозу, у більшості випадків спостерігались у асоціаціях (77,3 %). Характерною була наявність грам-негативної флори з переважанням грам-позитивної флори у вигляді стафілокока і/або стрептокока. В ході наших досліджень частину виділених штамів стрептокока та стафілокока ми віднесли до патогенних.

Крім кокової флори ми виявили грам-негативну флору (кишкова паличка, протей, синегнійна паличка та ін.). Серед ентеробактерій переважувала кишкова паличка та становила найбільший відсоток виявлення, що зростав у міру прогресування ступеня дисбіозу (табл. 2). Істотна різниця була також встановлена у кількості виділених культур порівняно з дріждже-

Таблиця 2

**Питома вага різних мікроорганізмів у мокротинні хворих з інфекційним типом загострення ХОЗЛ із супутнім атеросклеротичним ураженням мезентеріальних артерій, n (%)**

Мікроорганізми	Ступінь кишкового дисбіозу		
	I	II	III
Стафілококи	30 (29,4)	34 (30,6)	38 (33,04)
Патогенні стафілококи	13 (12,76)	10 (9,01)	10 (8,69)
Стрептококи	23 (22,5)	20 (18,01)	22 (19,1)
Пневмококи	4 (3,92)	6 (5,41)	2 (1,73)
Сарцини	1 (0,98)	1 (0,90)	1 (0,86)
Нейсерії	9 (8,82)	8 (7,20)	6 (5,2)
Клебсиела	2 (1,96)	8 (7,20)	10 (8,69)
Кишкова паличка (гемоліз <sup>+</sup> )	6 (5,9)	10 (9,01)	13 (11,3)
Протей вульгарний	0	0	1 (0,86)
Синегнійна паличка	1 (0,98)	1 (0,90)	1 (0,86)
Коринебактерії	3 (2,94)	2 (1,80)	1 (0,86)
Грибки роду <i>Candida</i>	10 (9,8)	11 (9,91)	10 (8,69)
Всього колоній	102	111	115

*Примітки:* n – кількість колоній; у дужках — відсоток від загального числа колоній.

подібними грибками роду *Candida*, що також зростала прямопропорційно ступеню тяжкості дисбіозу кишечника.

Отримані нами дані при вивченні мікробного пейзажу мокротиння у хворих на ХОЗЛ дозволяють зробити висновки, що на слизовій оболонці бронхів персистує полімікробна флора (переважно кокова), грам-позитивна флора (стафілококи та стрептококи) з контамінацією грам-негативних бактерій кишкової групи та дріжджеподібних грибків роду *Candida* з тенденцією до зростання обсіменіння у міру прогресування ступеня дисбіозу кишечника. Слід зауважити, що колонізація/інфекція бактеріями, дріжджовими грибками умовно-патогенної мікрофлори дихальних шляхів у хворих на ХОЗЛ може бути пов'язана з поглибленням тяжкості, зменшенням ефективності антибіотикотерапії та зростанням частоти виявлення загострень основного захворювання. Поява умовно-патогенних мікроорганізмів у невластивих для них середовищах не може не викликати занепокоєння, оскільки захворюваність, що обумовлена умовно-патогенною флорою, нині широко розповсюджена.

На наш погляд, наявність дисбіозу кишечника, що виникає на фоні атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій, не можна розглядати лише як наслідок або індикатор тяжкості перебігу ХОЗЛ у хворих старших вікових груп, а змістити акцент на роль етіології умовно-патогенної мікрофлори у прогресуванні загострень.

Отже, при загостренні ХОЗЛ еридикацію патологічних мікроорганізмів необхідно досягати за допомогою адекватної антибактеріальної терапії з урахуванням мікробного пейзажу мокротиння та їх чутливості до антимікробних засобів. Крім того, у хворих з тяжким перебігом та частим рецидивуванням ХОЗЛ доцільно оцінювати ступінь порушення мікрофлори порожнини товстого кишечника з метою усунення токсико-інфекційного вогнища, що сприятиме тривалому безрецидивному перебігу захворювання, зниженню потреби пацієнта в антибіотиках і протизапальних препаратах, зменшенню числа госпіталізацій. Це, у свою чергу, зменшує ризик розвитку ускладнень, поліпшує якість життя пацієнта, знижує летальність, внаслідок чого істотно зменшуються витрати на лікування хворих на ХОЗЛ.

### Висновки

1. Внаслідок порушення мікробного пейзажу порожнини товстої кишки у хворих на ХОЗЛ з інфекційним типом загострення на тлі атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій у мокротинні зростає контамінація патогенних штамів *E. coli* на фоні переважання кокової флори.

2. При обстеженні хворих із загостренням ХОЗЛ із супутнім атеросклеротичним ураженням мезентеріальних артерій додатково до діагностичного алгоритму доцільно включати мікробіологічне дослідження випорожнень та мокротиння з метою встановлення ступеня дисбіозу кишечника, мікробного пейзажу мокротиння з визначенням чутливості до антибіотиків.

3. Розвиток дисбіозу кишечника у хворих на ХОЗЛ на фоні атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій обумовлює необхідність його комплексного диференційованого лікування з метою профілактики можливих подальших порушень колонізаційної та загальної резистентності організму.

### Література

1. *Бліндер О. В., Бліндер О. О.* Вікові особливості етіологічної структури дисбактеріозу товстої кишки // Клін та експерим. патологія. — 2008. — 7, № 1. — С. 17–20.
2. *Зарембо И. А.* Хроническая обструктивная болезнь легких у пожилых и старых пациентов // Клин. геронтол. — 2005. — № 5. — С. 46–51.
3. *Калитина Е. В.* Дисбиоз: современные возможности коррекции // Вестн. семейной мед. — 2007. — № 2. — С. 12–15.
4. *Красноголовец В. Н.* Дисбактериоз кишечника. — М.: Медицина, 1989. — 182 с.
5. *Чучалин А. Г., Синопальников А. И., Козлов Р. С.* Инфекционные обострения ХОБЛ: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике: Пособие для врачей. — М.: ООО «Издательский дом «М-Вести», 2005. — 245 с.
6. *Якубов М., Одинаев Ш. Ф.* Микробный пейзаж содержимого бронхов пожилых больных с хронической бронхолегочной патологией // Клин. геронтол. — 2008. — № 6. — С. 35–37.

7. *Anthonisen N. R., Manfreda J., Warren C. P. et al.* Antibiotic therapy in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease // *Ann. Intern. Med.* — 1987. — **106**. — P. 196–204.
8. *Fargeaudou Y., Dray X., Le Dref O. et al.* Chronic mesenteric ischemia: endovascular management // *J. Radiol.* — 2008. — **89**, № 1. — P. 68–70.
9. *Otte J. M., Podolsky D. K.* Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms // *Am. J. Physiol. Gastrointestinal Liver Physiol.* — 2004. — **286**. — P. G 613–626.
10. *Welte T.* Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. More a functional than an inflammatory problem? // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2008. — **177**. — P. 130–131.

Надійшла 01.10.2009

## **CHANGES IN THE MICROBIAL PATTERN OF SPUTUM OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE AGAINST THE BACKGROUND OF INTESTINAL DYSBIOSIS IN CONDITIONS OF ATHEROSCLEROTIC LESION OF MESENTERIAL ARTERIES**

**K. V. Ryhlitska, M. Yu. Kolomoets**

Boukovyna State Medical University MoH Ukraine, 58000 Chernivtsy

The purpose of investigation of 79 patients with chronic obstructive lung disease (COLD) and concomitant atherosclerotic lesion of mesenteric arteries was to determine the effects of microecology of large intestine cavity on the contamination of opportunistic pathogenic microflora of respiratory tract. The data obtained revealed an increase of contamination of sputum with Gram-negative bacteria (including opportunistic strains of *E. coli* and yeastlike fungi of *Candida* genus) against the background of prevailing coccal flora as a result of disturbances of microbial pattern of large intestine cavity in the COLD patients with both infectious and non-infectious type of exacerbation. Development of intestinal dysbiosis in patients with COLD against the background of atherosclerotic lesion of mesenteric arteries conditioned the necessity for its differentiated treatment to prevent possible further disturbances of colonizational and general resistance of the organism.



## ВПЛИВ ШКІДЛИВИХ ЧИННИКІВ ТА ХРОНІЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ НА ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ПОКАЗНИКИ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ЛЮДЕЙ РІЗНОГО ВІКУ

**І. В. Болтіна**

Інститут екогігієни і токсикології ім. Л. І. Медведя МОЗ України,  
03680 Київ

При обстеженні 200 мешканців Києва віком від 20 до 70 років були підтвержені вікові залежності підвищення частоти аберацій хромосом і кількості анеуплоїдних клітин. Показано, що шкідливі умови праці, хронічні захворювання та наявність онкопатології в родоводі також впливають на генетичний апарат людини. Вивчені додаткові цитогенетичні характеристики — кількість мультиаберантних клітин та їх надспонтанні рівні при модифікації культур респондентів мітоміцином *C* (адаптаційний показник організму). Виявлено, що кількість анеуплоїдних клітин є більш значущим показником при популяційних дослідженнях, ніж частота аберацій хромосом.

**Ключові слова:** аберация хромосом, анеуплоїдні та мультиаберантні клітини, онкопатологія в родоводі, хронічні захворювання, шкідливі чинники.

Швидкість процесу старіння обумовлена як генетичними, так і чинниками навколишнього середовища, що діють протягом життя на організм [5, 6, 25, 31]. Гіпотеза, що розглядає спонтанні мутації в соматичних клітинах як причину старіння, концептуально представляється найбільш

логічною. Дійсно, ДНК визначає всі основні клітинні функції; вона чутлива до дії різних фізичних і хімічних чинників, її зміни передаються дочірнім клітинам. Крім того, ця гіпотеза підтверджується рядом клінічних і експериментальних досліджень. По-перше, у людини існують спадкові синдроми передчасного старіння, обумовлені різними дефектами репарації ДНК [6, 27]. По-друге, іонізуючі випромінювання, а також чинники, що модифікують ДНК (наприклад, 5-бромдезоксирідін), прискорюють процес старіння експериментальних тварин [1, 21]. При цьому молекулярні, цитологічні та цитогенетичні порушення при природному та індукованому радіацією старінні аналогічні [6]. По третє, є певний паралелізм між віддаленими соматичними (тобто що виникають безпосередньо в опромінених організмах) і генетичними (тобто ті, що наявні в потомстві опромінених батьків) ефектами радіації [6]. Це — збільшення канцерогенного ризику, нестабільність геному, погіршення загально фізіологічного статусу [6, 15, 37, 40]. На відміну від самих опромінених організмів їх потомство вільне від наслідків безпосередньої променевої дії, але так само, як і опромінені особи, має в своїх соматичних клітинах індуковані генетичні пошкодження, що передані через статеві клітини батьків.

Згідно з думкою В. Г. Зайнулліна та А. А. Москальова [9], в основі процесів клітинного старіння лежить вікова реорганізація геному, викликана скороченням теломір, що, на думку *H. Vaziri* та *S. Benchimol* [38], призводить до формування дицентриків та запускає реакцію на пошкодження ДНК, опосередковану білком *p53* (клітина перестає ділитися та старіє) та активацією мобільних генетичних елементів дефектами систем репарації ДНК. Подібна генетична нестабільність соматичних клітин передумовлює глибокий вплив на генну експресію, що призводить до генетичних та епігенетичних змін та обумовлює дегенерацію і атрофію клітин та тканин. Останнє, в свою чергу, є причиною старіння організму в цілому. Показане в багаточисельних дослідженнях збільшення частоти реєстрації структурних мутацій під впливом різних шкідливих чинників (радіація, хімічні сполуки) дозволяє розглядати їх як одну з можливих причин погіршення здоров'я людей в екологічно несприятливих умовах. Нарешті, при дослідженні різних цитогенетичних, мутаційних і молекулярно-генетичних порушень у більшості випадків було встановлено, що частота їх виникнення збільшується з віком. Це стосувалося хромосомних аберацій [29, 32], мікроядер [28], анеуплоїдії [30], втрати теломерних повторів [35], мутацій в гликофориновому локусі [29], мутацій, які стійки до 6-тиогуаніну [33], розривів ДНК [5] та ін.

Структурні аберації хромосом належать до того типу генетичних порушень, які роблять свій внесок у багатофакторний процес старіння. Нестабільні хромосомні аберації (дицентрики, кільця, фрагменти) призводять до загибелі клітин, стабільні (транслокації, інерції), як відомо, супроводжують онкогенез, а також можуть впливати на життєво важливі функції клітин.

Геномним мутаціям (анеуплоїдії) приділяється увага все більшого числа науковців, оскільки ці порушення впливають на розвиток різних патологічних станів [18, 23, 26, 36]. Вперше збільшення частоти виникнення анеуплоїдних клітин залежно від віку було встановлено Ю. Я. Керкісом [13]. У той час існувала думка, що вікова анеуплоїдія — це артефактне явище, обумовлене змінами осморезистентності лімфоцитів. Однак встановлено, що особи похилого віку з високим рівнем анеуплоїдії помирали упродовж наступних 6 років, а з низьким рівнем анеуплоїдії продовжували жити [19].

Багаточисленні цитогенетичні дослідження (упродовж 30 років) були проведені Н. П. Бочковим та співавт. [4]. Ними встановлена відсутність змін загальної кількості аберантних метафаз залежно від статі та віку людини. Проте після 80 років кількість фрагментів зростає, а кількість хроматидних обмінів зменшується. Це підтверджується даними А. Н. Чеботарьова [24]. Автори пов'язують це з більш ефективним перебігом репараційних процесів у молодому віці. Дані про вікову залежність частоти реєстрації аберантних метафаз наведено в табл. 1.

Отже, однозначної думки щодо вікової залежності цитогенетичних показників немає, а тому питання потребує подальшого дослідження. Хоча не виключно, що ці протиріччя можна пояснити деякими чинниками: по-перше — різницею між мутагенним навантаженням в регіонах, по-дру-

Таблиця 1

**Вікові залежності значень цитогенетичних показників  
у лімфоцитах периферичної крові**

Рівень аберантних метафаз	Кількість				Автори
	фрагментів	обмінів	транслокацій	анеуплоїдних кліти	
Підвищується			підвищується	підвищується	[6, 39]
					[20]
					[11]
				підвищується	[19]
					[22]
	підвищується	знижується			[12]
					[23]
				підвищується	[29]
Не змінюється	підвищується	знижується			[32]
					[4]
					[24]
				не змінюється	[2]
					[8]
				[7]	

ге — соціальною неоднорідністю вибірок, і крім того — розбіжністю біологічного і фізичного віку обстежених, що, можливо, і є основною причиною протиріччя. Слід зазначити також, що результати деяких досліджень свідчать про “омолодження” хронічної соматичної неінфекційної захворюваності в Україні [14] та Узбекистані [17].

Чинники навколишнього середовища мають вплив на швидкість процесу старіння, яке може бути обумовлено як індивідуальною генетичною програмою, так і різними дефектами репарації ДНК. Крім того, в старості вірогідність розвитку пухлин збільшується, тому аналіз вікової динаміки хромосомної аберації може сприяти розумінню механізмів канцерогенезу. Нарешті, при дослідженні різних цитогенетичних, мутаційних і молекулярно-генетичних порушень у більшості випадків було встановлено, що частота їх виникнення збільшується з віком.

Але питання щодо вікових особливостей цитогенетичних показників відносно шкідливих чинників умов праці та впливу хронічних захворювань потребує більш детального дослідження, що і стало метою даної роботи.

**Обстежувані та методи.** Обстежено 200 мешканців Києва віком від 20 до 70 років: 128 — контрольна група (особи без впливу професійних шкідливих чинників), 72 — основна група (особи під впливом шкідливих професійних чинників), яких було розподілено на 5 підгруп (20–30 років, 31–40, 41–50, 51–60 та 61–70 років). Крім професійних шкідливих чинників звертали увагу на наявність хронічних захворювань (виключаючи онкологічні) та наявність/відсутність онкопатології в родині.

При вивченні даних респондентів із наявністю онкопатології в родині згідно з локалізацією захворювань (гінекологічні, шлунково-кишковий тракт, кров, легені), статистично достовірної різниці між підгрупами по всім показникам не спостерігалось. Тому при проведенні досліджень локалізацію онкологічних захворювань в родині не враховували, а тільки відзначали їх наявність чи відсутність.

Цитогенетичні показники (частота аберацій, кількість анеуплоїдних та мультіаберантних клітин, надспонтанні рівні дії мітоміцину *C*) визначали в лімфоцитах периферичної крові. Культивування лімфоцитів та приготування препаратів хромосом виконували за стандартним напівмікрометодом [34] з модифікаціями, що прийняті в лабораторії мутагенезу. Відбір метафазних пластинок для цитогенетичного аналізу, класифікація та метод обліку аберацій хромосом були загальноприйнятими [10]. Для цитогенетичного аналізу використовували метафазні пластинки без перехрещень ( $46 \pm 2$ ). Враховували аберації хроматидного (одиначні фрагменти — хроматидні делеції, міжхроматидні обміни) та хромосомного (парні фрагменти — термінальні та інтерстичіальні делеції, кільцеві хромосоми, міжхромосомні обміни, в результаті яких утворюються дицентрики та аномальні моноцентрики) типів. Мультіаберантними клітинами вважали такі, які мали 3 і більше аберацій. Пробіли реєстрували, але до числа абе-

рацій не включали. Критерієм відмінності пробілів від фрагментів було зміщення останніх відносно осі хроматиди. Анеуплоїдні клітини розподіляли на гіпоплоїдні, які мали від 24 до 44 хромосом, та гіперплоїдні, які мали більше 46 хромосом [3]. Проводили аналіз зашифрованих препаратів, пофарбованих рутинним методом. Від кожного індивідууму аналізували не менше 200 метафаз.

Для отримання показників надспонтанних рівней було проведено модифікацію мітоміцином *C* (в концентрації 10 мкг/мл) культури лімфоцитів периферичної крові за 24 год до фіксації. Надспонтанним рівнем вважали різницю між частотою реєстрації аберантних метафаз при дії мутагену (Мітоміцину *C*) та спонтанною частотою (без мутагенного впливу). Надспонтанні рівні відображують адаптаційні можливості організму: чим вищі значення цього показника, тим більші адаптаційні можливості організму.

Статистичну обробку проводили згідно з *t*-критерієм Стьюдента — загальноприйнятою методикою [16].

**Результати та їх обговорення.** Із даних табл. 2 можна констатувати, що рівень аберантних метафаз зі збільшенням віку підвищується. Слід зазначити, що на значення цього показника впливає і наявність онкопатології в родоводі: по-перше, в осіб з онкопатологією в родоводі частота аберацій хромосом більше 3,0 %; по-друге, є такі значення і в осіб без онкопатології в родоводі (хоча статистичної достовірності у більшості випадків немає). Ця ж тенденція спостерігається і при впливі хронічних захворювань.

На рівень анеуплоїдних клітин впливають вік, наявність онкопатології в родоводі, хронічні захворювання та шкідливі умови праці. Цей показник виявився найбільш достовірно значущим серед всіх цитогенетичних показників, що, можливо, не помилково. Саме по підвищенню кількості анеуплоїдних клітин можна прогнозувати додаткове навантаження на геном (враховуючи і канцерогенний ризик), а отже, і формувати групи ризику стосовно цього показника.

Кількість мультиаберантних клітин залежить тільки від віку, що може свідчити про можливі вікові виникнення змін у системі репарації, що також не є випадковим.

Значення показників генетичної адаптації організму (надспонтанні рівні) зі зростанням віку знижуються, що свідчить про накопичення змін в організмі. Крім того, вони можуть залежати і від наявності онкопатології в родоводі.

Таким чином, обстеживши 200 мешканців Києва, можна підтвердити висновки багатьох дослідників щодо вікового збільшення частоти аберацій хромосом [6, 11, 12, 19, 20, 22, 23, 29, 32] та кількості анеуплоїдних клітин [6, 19, 32]. Проте в роботі доведені вікові зміни значень цих показників відносно додаткових чинників, а саме: впливу шкідливих чинників, хронічних захворювань та наявності онкопатології в родоводі.

Таблиця 2  
Значення цитогенетичних показників залежно від віку, впливу онкопатології в родоводі, хронічних захворювань та шкідливих чинників, %

Група, років	Без впливу шкідливих чинників			Із впливом шкідливих чинників						
	з хронічними захворюваннями			без хронічних захворювань			з хронічними захворюваннями			
	без онкопатології в родоводі	з онкопатологією в родоводі	з онкопатологією в родоводі	без онкопатології в родоводі	з онкопатологією в родоводі	з онкопатологією в родоводі	без онкопатології в родоводі	з онкопатологією в родоводі	з онкопатологією в родоводі	
20-30	2,2 ± 0,2	3,0 ± 0,4 <sup>γ</sup>	2,4 ± 0,4	2,4 ± 0,4	3,1 ± 0,5	3,4 ± 0,5 <sup>γ</sup>	1,8 ± 0,4	3,4 ± 0,5	2,3 ± 0,5	н/д
31-40	2,4 ± 0,3	3,2 ± 0,5	2,6 ± 0,4	2,6 ± 0,4	3,5 ± 0,5	3,6 ± 0,5 <sup>γ</sup>	2,1 ± 0,4	3,6 ± 0,5	3,5 ± 0,6 <sup>δ</sup>	4,3 ± 0,6
41-50	н/д	3,0 ± 0,5	3,0 ± 0,5	3,0 ± 0,5	3,0 ± 0,5	3,7 ± 0,5	н/д	3,7 ± 0,5	2,9 ± 0,5	4,5 ± 0,7 <sup>ε</sup>
51-60	н/д	н/д	3,3 ± 0,4	3,3 ± 0,4	3,6 ± 0,5	4,2 ± 0,7	н/д	4,2 ± 0,7	3,4 ± 0,5	н/д
61-70	н/д	4,4 ± 0,5 <sup>*α</sup>	4,4 ± 0,6 <sup>*α</sup>	4,4 ± 0,6 <sup>*α</sup>	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
20-30	7,9 ± 0,5	9,6 ± 0,7 <sup>γ</sup>	9,3 ± 0,8	9,3 ± 0,8	11,4 ± 1,0	10,3 ± 0,8 <sup>γ</sup>	6,7 ± 0,7	10,3 ± 0,8 <sup>γ</sup>	9,5 ± 0,9 <sup>δ</sup>	н/д
31-40	10,9 ± 0,6 <sup>*</sup>	14,6 ± 1,0 <sup>*γ</sup>	14,5 ± 1,1 <sup>*δ</sup>	14,5 ± 1,1 <sup>*δ</sup>	15,4 ± 1,1 <sup>*</sup>	13,2 ± 0,9 <sup>*</sup>	11,8 ± 0,9 <sup>*</sup>	13,2 ± 0,9 <sup>*</sup>	9,1 ± 0,9 <sup>δ</sup>	13,4 ± 1,0 <sup>γ</sup>
41-50	н/д	16,4 ± 1,0 <sup>*</sup>	14,2 ± 0,8 <sup>*</sup>	14,2 ± 0,8 <sup>*</sup>	15,7 ± 1,1 <sup>*</sup>	14,7 ± 0,9 <sup>*</sup>	н/д	14,7 ± 0,9 <sup>*</sup>	11,5 ± 1,0 <sup>δ</sup>	14,4 ± 1,1 <sup>γ</sup>
51-60	н/д	н/д	14,3 ± 0,9 <sup>*</sup>	14,3 ± 0,9 <sup>*</sup>	17,5 ± 1,1 <sup>*γ</sup>	16,0 ± 1,3 <sup>**</sup>	н/д	16,0 ± 1,3 <sup>**</sup>	14,6 ± 0,9 <sup>**α</sup>	н/д
61-70	н/д	16,9 ± 1,0 <sup>**</sup>	16,1 ± 1,1 <sup>*</sup>	16,1 ± 1,1 <sup>*</sup>	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
20-30	0	0	0	0	0,3 ± 0,1 <sup>δ</sup>	0,1 ± 0,1	0	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1 <sup>δδ</sup>	н/д
31-40	0,13 ± 0,07 <sup>*</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>*</sup>	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,5 ± 0,2
41-50	н/д	0,3 ± 0,1 <sup>*</sup>	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	н/д	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,7 ± 0,3
51-60	н/д	н/д	0,4 ± 0,2 <sup>*</sup>	0,4 ± 0,2 <sup>*</sup>	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	н/д	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	н/д
61-70	н/д	1,0 ± 0,3 <sup>**</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>**α</sup>	0,9 ± 0,3 <sup>**α</sup>	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
20-30	11,7 ± 0,8	8,8 ± 0,3 <sup>γ</sup>	9,2 ± 1,4 <sup>δ</sup>	9,2 ± 1,4 <sup>δ</sup>	8,1 ± 0,4	9,3 ± 1,2 <sup>γ</sup>	13,0 ± 2,2	9,3 ± 1,2 <sup>γ</sup>	10,8 ± 0,4	н/д
31-40	10,7 ± 1,7	8,6 ± 1,2	7,7 ± 1,8	7,7 ± 1,8	7,8 ± 1,5	7,5 ± 2,0	9,6 ± 1,2	7,5 ± 2,0	8,9 ± 0,5 <sup>*</sup>	6,7 ± 0,3 <sup>γ</sup>
41-50	н/д	8,4 ± 0,4	8,2 ± 1,9	8,2 ± 1,9	8,3 ± 0,4 <sup>α</sup>	7,4 ± 1,4	н/д	7,4 ± 1,4	9,1 ± 0,6 <sup>*</sup>	5,3 ± 0,3 <sup>**δ</sup>
51-60	н/д	н/д	7,4 ± 1,8	7,4 ± 1,8	7,5 ± 1,7	5,5 ± 0,9 <sup>*</sup>	н/д	5,5 ± 0,9 <sup>*</sup>	7,9 ± 0,6 <sup>*</sup>	н/д
61-70	н/д	4,4 ± 2,1 <sup>**α</sup>	3,2 ± 1,0 <sup>**δβ</sup>	3,2 ± 1,0 <sup>**δβ</sup>	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д

Примітки: \* —  $P \leq 0,05$  порівняно з віком 20-30 років, <sup>†</sup> —  $P \leq 0,05$  порівняно з віком 31-40 років, <sup>α</sup> —  $P \leq 0,05$  порівняно з віком 41-50 років, <sup>β</sup> —  $P \leq 0,05$  порівняно з віком 51-60 років; <sup>γ</sup> —  $P \leq 0,05$  порівняно з особами без онкопатології в родоводі; <sup>δ</sup> —  $P \leq 0,05$  порівняно з особами без хронічних захворювань відповідної підгрупи, <sup>ε</sup> —  $P \leq 0,05$  порівняно з особами без впливу шкідливих чинників відповідних підгруп; н/д — немає даних.

Дані щодо вікового збільшення кількості мультиаберагантних клітин та зниження надспонтанних рівнів також свідчать про вплив вище перерахованих чинників на генетичний апарат досліджуваних респондентів.

Треба зазначити, що під час досліджень на “перший план” за значимістю вийшов цитогенетичний показник (кількість анеуплоїдних клітин), який відкриває більш широкі можливості щодо цитогенетичного аналізу, особливо для формування груп ризику щодо негативного впливу на генетичний апарат людини при популяційних дослідженнях.

### Література

1. *Анисимов В. Н., Осипова Г. Ю.* Сокращение продолжительности жизни крыс под влиянием 5-бromo-2'-дезоксинуридина // Пробл. старения и долголетия. — 1991. — 1, № 2. — С. 147–154.
2. *Бигалиев А. Б., Краусс Э. В.* Цитогенетический мониторинг населения из экологически неблагополучных районов // Цитология и генетика. — 1992. — 26, № 1. — С. 64–66.
3. *Болтина И. В.* Метод подсчета анеуплоидных клеток при метафазном анализе абераций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека: Свідोцтво про реєстрацію авторських прав на твір. 2003. ПА № 8332 // Авторське право і суміжні права. — 2003. — № 4, Серія КВ № 6018. — С. 216–217.
4. *Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Катосова Л. Д.* и др. База данных для анализа количественных характеристик частоты абераций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Генетика. — 2001. — 37, № 4. — С. 549–557.
5. *Виленчик М. М.* Молекулярные механизмы старения. — М.: Наука, 1970. — 168 с.
6. *Воробцова И. Е., Тимофеева Н. М., Богомазова А. Н.* и др. Возрастная зависимость частоты стабильных хромосомных абераций, определяемых методом *FISH*, в лимфоцитах здоровых доноров и лиц, подвергшихся неконтролируемому облучению в малых дозах // Успехи геронтологии. — 1999. — Вып. 3. — С. 233–239.
7. *Дружинин В. Г., Мишина В. И., Мокрушина Н. В.* Цитогенетические нарушения у рабочих коксохимического производства // Медицина труда и промышленная экология. — 2000. — № 10. — С. 22–24.
8. *Журков В. С.* Методические основы и принципы оценки мутагенных эффектов химических факторов окружающей среды: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1988. — 42 с.
9. *Зайнуллин В. Г., Москалев А. А.* Роль генетической нестабильности (ГН) в старении клетки // Генетика. — 2000. — 36, № 8. — С. 1013–1016.
10. *Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И.* Хромосомы человека: Атлас. — М.: Медицина, 1982. — 263 с.
11. *Ильинских Н. Н., Ильинских И. Н., Бочаров Е. Ф.* Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. — Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1986. — 255 с.
12. *Илющенко В. Г.* Классификация спонтанной генотипической клеточной адаптации // Цитология и генетика. — 2002. — 36, № 5. — С. 34–42.
13. *Керкис Ю.Я., Раджабли С.И.* Анеуплоидия в лейкоцитах периферической крови человека и мутационная теория старения // Цитология. — 1966. — № 8. — С. 282.
14. *Корнев Я. М., Богмат Л. Ф., Толмачева С. Р.* и др. Структура инвалидности детей и лиц молодого возраста с хроническими соматическими заболеваниями // Лікарська справа. — 2002. — № 3–4. — С. 34–37.
15. *Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г., Фоменко С. Е., Рахманин Ю. А.* Влияние стресса на

- состояние липидного и углеводного обмена печени, профилактика // Гигиена и санитария. — 2005. — № 2. — С. 17–21.
16. *Мицгер О. П., Узаров Б. Н., Власов В. В.* Методы обработки медицинской информации. — Киев: Вища школа, 1991. — 271 с.
  17. *Мирсайдуллаев М. М., Хужамбердиев М. А., Мамасалиев Н. С.* Мониторинг факторов риска основных хронических неинфекционных заболеваний у женщин в возрасте 15–49 лет в Узбекистане // Укр. мед. часопис. — 2006. — № 6. — С. 74–77.
  18. *Назаренко С. А., Тимошевский В. А.* Сравнительный анализ частоты анеуплоидии в покоящихся и делящихся клетках человека при воздействии вредных внешнесредовых факторов // Генетика. — 2005. — **41**, № 3. — С. 391–395.
  19. *Олишица К. Д.* Хромосомы при раке: Пер. с румынск. — М.: Медицина, 1982. — 232 с.
  20. *Піліньська М. А., Дибський С. С.* Спонтанний рівень аберацій хромосом, встановлений в лімфоцитах периферичної крові осіб різного віку за допомогою методу FISH // Цитология и генетика. — 2004. — **38**, № 4. — С. 62–66.
  21. *Потапенко А. И., Рудаковская Е. Г., Акифьев А. П.* Влияние 5-бром-2'-дезоксигуанидина на продолжительность жизни и поведение *Drosophila melanogaster* // Докл. РАН. — 1997. — № 6. — С. 847–850.
  22. *Фролов А. К., Арцимович Н. Г., Сохин А. А.* Иммуноцитогенетика. — М.: Медицина, 1993. — 239 с.
  23. *Цитологическая реактивность онкологического больного* / Под ред. К. П. Ганиной. — Киев: Наук. думка, 1995. — 150 с.
  24. *Чеботарев А. Н.* Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // Вестник РАМН. — 2001. — № 10. — С. 64–69.
  25. *Curtis H. J.* A composite theory of aging // Gerontologia. — 1966. — **6**, № 1. — P. 143–145.
  26. *Duesberg P., Rasnick D.* Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own // Cell Motility and Cytoskeleton. — 2000. — **47**. — P. 81–107.
  27. *Epstein J., Williams J., Little J.* Deficient DNA repair in progeria and senescent human cells // Radiation Research. — 1973. — **55**, № 3. — P. 527–529.
  28. *Fenech M., Morley A. A.* The effect of donor age on spontaneous and induced micronuclei // Mutation Research. — 1985. — **148**. — P. 99–105.
  29. *Gangulu B. B.* Cell division, chromosomal damage and micronucleus formation in peripheral lymphocytes of healthy donors: related to donor's age // Mutation Research. — 1993. — **295**. — P. 135–148.
  30. *Hagnar L., Brogger A., Hansteen I. L. et al.* Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: nordic study group on the health risk of chromosome damage // Cancer Research. — 1994. — **54**. — P. 2919–2922.
  31. *Hando J. C., Nath J., Tucker J. D.* Sex chromosomes, micronuclei and aging in women // Chromosoma. — 1994. — **103**. — P. 186–192.
  32. *Harman D.* Free radical theory of aging // Mutation Research. — 1992. — **275**. — P. 257–266.
  33. *Hedner K., Hogstedt B., Koling A. M. et al.* Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in relation to age and sex // Human Genetics. — 1982. — **62**. — P. 305–309.
  34. *Hungerford D. A.* Leucocytes cultured from small inoculate of whole blood and preparation metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Techn. — 1965. — **40**. — P. 333–338.
  35. *Lindsey J., McGill N. I., Green D. K., Cooke H. I.* In vivo loss of telomeric repeats with age in humans // Mutation Research. — 1991. — **256**. — P. 45–48.
  36. *Sen S.* Aneuploidy and cancer // Curr. Opinion Oncology. — 2000. — **12**. — P. 82–88.



37. *Tucker J. D., Preston R. J.* Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment // *Mutation Research.* — 1996. — **365.** — P. 147–159.
38. *Vaziri H., Benchimol S.* Recombitanion of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span // *Curr. Biol.* — 1998. — **8,** № 5. — P. 279–282.
39. *Vorobtsova I. E.* Increased cancer risk as a genetic effect of ionizing radiation // *Perinatal and multigeneration carcinogenesis.* - Lyon: IARC Publication, 1989. — № 96. — P. 389–403.
40. *Vorobtsova I. E., Aliyakparova L. M., Anisimov V. N.* Promotion of skin tumors by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two generations of descendants of male mice exposed to X-ray irradiation // *Mutation Research.* — 1993. — **287.** — P. 207–216.

Надійшла 26.10.2009

## **INFLUENCE OF HARMFUL FACTORS AND CHRONIC PATHOLOGY ON CYTOGENETIC INDICES OF LYMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD IN PERSONS OF VARIOUS AGE**

**I. V. Boltina**

L. I. Medved Institute of Ecohygiene and Toxicology  
Ministry of Health Ukraine, 02680 Kyiv

The results of investigation of 200 residents of Kyiv aged 20–70 confirmed the age-dependent increase in the frequency of chromosomal aberrations and in the number of aneuploid cells. The harmful working conditions, chronic diseases, and presence of onco-pathology in the family history were found to affect the human genetic apparatus as well. The following additional cytogenetic characteristics have been studied: the number of multiaberrant cells and their super-spontaneous levels at modification of culture respondents by mitomycin C (index of organism's adaptation). The number of aneuploid cells vs. frequency of chromosomal aberrations was found to be a still more valuable index in population studies.

# СОЦИАЛЬНАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ И ГЕРОГИГИЕНА

---

“Пробл. старения и долголетия”, 2009, 18, № 4. — С.442–448

УДК 612.821.2:612.67

## ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА ПРИ СТАРЕНИИ НА КОГНИТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ

**Н. А. Прокопенко**

Государственное учреждение “Институт геронтологии  
им. Д. Ф. Чеботарьова АМН Украины”,  
04114 Киев

У 123 работников умственного труда в возрасте 20–79 лет и 75 долгожителей исследовали возрастные изменения сердечно-сосудистой, нервно-мышечной и дыхательной систем и их роль в развитии когнитивных нарушений, которые определяли психофизиологическим тестированием. По данным возрастных изменений показателя сердечно-сосудистой деятельности выявлены периоды снижения адаптационных возможностей организма (у мужчин 50–59 лет, у женщин 40–49 и 60–69 лет), которые служат прогностически неблагоприятным признаком развития когнитивных нарушений. При дифференциации долгожителей по данным теста *MMSE* выявлено, что у лиц с умеренными когнитивными нарушениями наблюдалось повышенное диастолическое артериальное давление по сравнению с пациентами с возрастзависимым снижением памяти.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистая система, возрастные изменения, чувствительные возрастные периоды, когнитивные нарушения.

© Н. А. Прокопенко (nprok@bigmir), 2009 .  
442

Возрастные изменения когнитивных способностей обычно наблюдаются после 50–60 лет: снижается возможность концентрации внимания, скорость обработки информации, способность воспринимать, распознавать и анализировать информацию, уменьшается объем оперативной памяти [10,12,13,15,16]. Можно предположить, что до определенного возраста наблюдается развитие когнитивных функций, а затем постепенное их угасание. Согласно некоторым ранним исследованиям считалось, что пик интеллектуального развития приходится на третье десятилетие жизни, а затем постепенно снижается в течение всей оставшейся жизни [9]. Однако дальнейшие исследования интеллекта показали, что все не так просто. В развитии интеллекта во взрослом возрасте происходят непрерывные изменения в виде спада и нового подъема [6]. На скорость умственной деятельности могут оказывать влияние как генетические, так и физиологические факторы. Как показали исследования, между снижением скорости психомоторных реакций и уменьшением эффективности умственной деятельности существует достоверная корреляция [17].

В настоящее время существует мнение, что важнейшим фактором риска когнитивных нарушений являются заболевания сердечно-сосудистой системы, в особенности артериальная гипертензия [3]. Учитывая неоднозначность изменений когнитивных способностей человека в течение его взрослой жизни, целью нашего исследования было выявление возможной связи изменений физиологического состояния индивида (в частности, состояния сердечно-сосудистой системы) с изменениями в интеллектуальной сфере.

**Обследуемые и методы.** Психофизиологическое тестирование прошли 198 лиц разного возраста и пола: 123 работника умственного труда (52 мужчины и 71 женщина) в возрасте 20–79 лет, а также 75 долгожителей (90 лет и старше) Киева, Киевской, Черниговской и Черкасской областей.

У обследуемых измеряли рост, массу тела, мышечную силу, определяли жизненную емкость легких, артериальное давление (систолическое — САД и диастолическое — ДАД), частоту сердечных сокращений (ЧСС) до и после нагрузки и рассчитывали значения показателя мышечной деятельности (ПМД) по формуле [8]:

$$\text{ПМД (усл. ед.)} = (0.75\text{СМ} \cdot \text{ВСН}) / (\text{МС} / \text{РТ}^2),$$

где СМ — сила мышц (даН), ВСН — выносливость к статической нагрузке (мин), МС — масса тела (кг), РТ — рост тела (м).

Значения показателя сердечно-сосудистой деятельности (ПССД) рассчитывали по такой формуле [8]:

$$\text{ПССД (усл. ед.)} = |1 - (\text{САД} \cdot \text{ДАД}) / (\text{ЧСС}_n \cdot \text{ЧСС}_n)|,$$

где ЧСС<sub>n</sub> — частота сердечных сокращений в покое (мин<sup>-1</sup>), ЧСС<sub>n</sub> — частота сердечных сокращений после нагрузки — 20 приседаний у лиц в возрасте 20–79 лет и 5 вставаний со стула у долгожителей (мин<sup>-1</sup>).

Субъективное время (СВ) изучали по оценке обследуемым временного интервала в 30 с. При этом фиксировали отклонения от заданного временного интервала [11]. Оперативное мышление определяли с помощью теста на поиск пропущенной цифры в ряду цифр (от 0 до 7), предлагаемых в произвольной последовательности [14]. Продолжительность тестирования — 3 мин. Определяли количество правильно выполненных тестовых задач, среднее время выполнения тестового задания и рассчитывали коэффициент операционного мышления (КОМ) по формуле [5]:

$$\text{КОМ (усл. ед.)} = N_{\text{пр}} / T_{\text{ср}},$$

где  $N_{\text{пр}}$  — количество правильно выполненных задач,  $T_{\text{ср}}$  — среднее время решения тестовой задачи (с).

У долгожителей определяли степень когнитивных нарушений по тесту *MMSE* (*mini mental state examination*) [2].

Для количественного измерения изменений значений показателей на протяжении жизни (“темп изменений”) вычисляли процентное соотношение их абсолютного прироста в данном и предшествующем периоде.

**Результаты и их обсуждение.** Психофизиологическое тестирование обследуемых показало возрастную динамику значений показателей сердечно-сосудистой, нервно-мышечной и дыхательной систем, эффективности когнитивных функций и функции восприятия времени. Анализируя изменения значений этих показателей (рис. 1), можно сделать

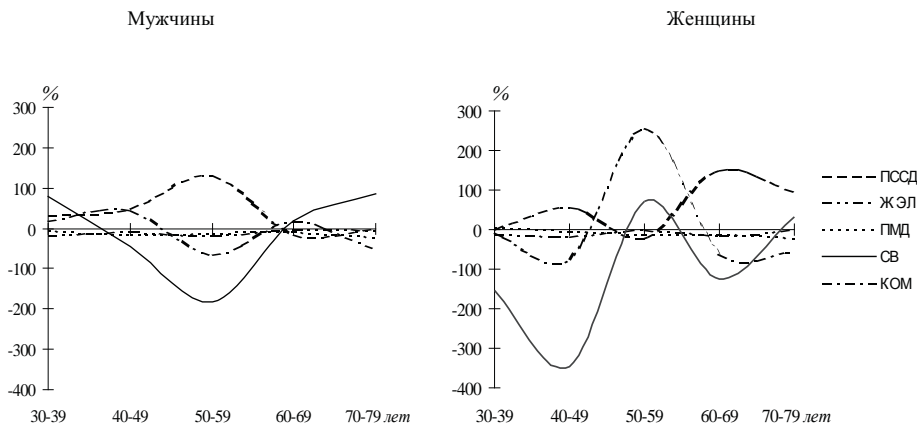


Рис. 1. Темп изменений значений показателя сердечно-сосудистой деятельности (ПССД), жизненной емкости легких (ЖЕЛ), показателя мышечной деятельности (ПМД), субъективного времени (СВ) и коэффициента операционного мышления (КОМ) у лиц разного возраста (цепное основание, то есть в % к предыдущей группе).

следующий вывод: на фоне неуклонного снижения с возрастом значений показателей нервно-мышечной и дыхательной систем возрастные изменения значений ПССД, СВ и КОМ имеют волнообразный характер (причем, как у мужчин, так и женщин). Максимальный темп снижения деятельности сердечно-сосудистой системы у мужчин наблюдается в возрасте 50–59 лет, у женщин первая вершина наблюдается в 40–49 лет, вторая — в 60–69 лет. В эти же возрастные периоды наблюдается резкое снижение КОМ и увеличивается ошибка восприятия времени (причем, в сторону сокращения временного интервала).

Оценка времени — одно из ценных свойств человека. “Чувство времени” является весьма чувствительным показателем, отражающим изменение соотношения процессов возбуждения и торможения. У здорового человека его “внутренние биологические часы” довольно четко измеряют отрезки времени. По ошибке восприятия времени можно судить о биологической адаптации человека, а также о тяжести и динамике патологического процесса. Согласно данным ряда исследований, лица, которые “укорачивают” время, имеют невысокие адаптационные способности организма, а у больных с такой тенденцией “биологических часов” наблюдается неблагоприятное течение болезни [1,4,7]. Как известно, состояние напряжения адаптации связано с увеличением степени напряжения регуляторных систем. Вегетативный гомеостаз имеет прямое отношение к управлению функциональными резервами организма, в частности системы кровообращения, которую можно рассматривать как индикатор адаптационных реакций целостного организма.

Таким образом, повозрастная оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы позволила нам выделить наиболее чувствительные периоды в жизни человека, причем как с точки зрения адаптационного потенциала, так и с точки зрения риска когнитивных нарушений. Исследование связи когнитивных нарушений с состоянием сердечно-сосудистой системы у долгожителей подтвердило наше предположение о роли вегетативных дисфункций в качестве индикатора возможных изменений в интеллектуальной сфере. Так, при дифференциации обследуемых долгожителей по данным теста *MMSE* было выявлено, что у лиц с умеренными когнитивными нарушениями наблюдалось повышенное ДАД по

Артериальное давление у долгожителей в зависимости от данных теста *MMSE*,  
мм рт. ст.

Группа	САД	ДАД
Возрастзависимое снижение памяти	146,8 ± 12,3	75,8 ± 4,6
Умеренные когнитивные нарушения	171,7 ± 19,2	89,2 ± 7,2*
Симптомы деменции	141,7 ± 14,4	77,8 ± 6,4

Примечание: \* —  $P < 0,05$  по сравнению с возрастзависимым снижением памяти.

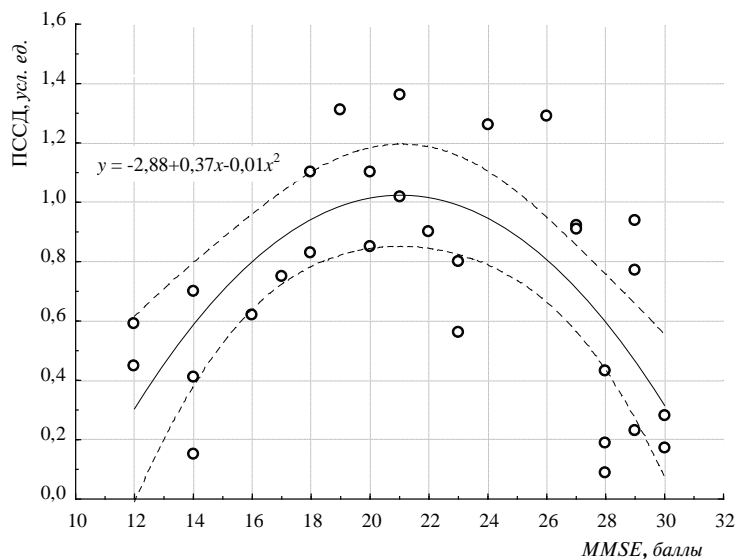


Рис. 2. Изменения значений ПССД у долгожителей в зависимости от данных теста *MMSE*.

сравнению с пациентами с возрастзависимым снижением памяти (таблица). При этом не выявлена линейная корреляция данных теста *MMSE* и значений ПССД. Дальнейшее исследование показало, что между этими переменными признаками существует  $\cap$ -образная зависимость вида  $y = -2,88 + 0,37x - 0,01x^2$  ( $P < 0,05$ ) (рис. 2). Таким образом, в группе обследованных долгожителей с умеренными когнитивными нарушениями наблюдались наибольшие значения ПССД, т. е. умеренные когнитивные нарушения как промежуточное состояние между возрастными изменениями мозга и клинической деменцией происходят на фоне снижения сердечно-сосудистой деятельности.

Итак, можно предположить, что длительное и стойкое напряжение регуляторных систем может привести к закономерным функциональным сдвигам, которые выражаются в постепенном переходе донозологических состояний в патологические. Такая активация сердечно-сосудистой системы должна рассматриваться как прогностически неблагоприятный фактор развития дезадаптации и когнитивных нарушений.

### Литература

1. Булгакова О. С., Булгаков А. Б. Связь варибельности субъективного времени с работой механизмов адаптационной защиты // *Фундаментальные исследования*. — 2009. — № 5. — С. 11–12.
2. Бушке А., Атkinson Р. Человеческая память и процесс обучения. — М.: Прогресс, 1980. — 527 с.

3. *Захаров В. В.* Нарушение когнитивных функций как медико-социальная проблема // Доктор. Ру. — 2006. — № 5. — С. 19–23.
4. *Ивасенко А. В., Муртазаева В. И., Бугаева О. В.* Залежність деяких психофізіологічних показників, що відображають адаптаційні можливості організму, від тонусу вищої нервової системи і загального стану організму // Фізіол. журн. — 2006. — № 2. — С. 34.
5. *Коробейников Г. В.* Психофизиологические механизмы умственной деятельности человека. — К.: Укр. фітосоціол. центр, 2002. — 124 с.
6. *Краснова О. В.* Современные проблемы психологии старения // Успехи геронтологии. — 2002. — Вып. 10. — С. 40–43.
7. *Кулітка Ю. Е.* Тривалість індивідуальної хвилини як показник ступеня бронхіальної обструкції // Фізіол. журн. — 2006. — № 2. — С. 149.
8. *Прокopenко Н. О.* Спосіб визначення функціональних резервів організму людини // Патент 16012 Україна. МПК А61В5/0205. — № 200601515; Заявл. 14.02.06; Опубл. 17.07.06. Бюл. № 7. — 6 с.
9. *Рудкевич Л. А.* Талант: психология и становление // Социальная психология личности. — Л.: Знание, 1974. — С. 207–222.
10. *Яхню Н. Н., Захаров В. В.* Легкие когнитивные расстройства в пожилом возрасте // Неврол. журн. — 2004. — 9, № 1. — С. 4–8.
11. *Ashford J. W., Kolm P., Colliver J. A. et al.* Alzheimer patient evaluation and the minimal state: Jtem characteristic cure analysis // J. Gerontol. — 1989. — 44, № 5. — P. 139–146.
12. *Birren J. E., Vercruijssen M., Fisher L. M.* Aging and speed of behavior // Altern & leistung. medizinische, psychologische und soziale aspekte. — Stuttgart: F. Enke Verlag, 1991. — P. 113–129.
13. *Coleman P. G.* Identity management in later life // Psychological problems of ageing: Assessment, treatment and care / Ed. R. T. Wood. — London: Wiley, 1999. — P. 49–75.
14. *Halberg F., Lee J. K., Nelson W. L.* Time-qualified reference intervals — chronodesms // Experientia (Basel). — 1998. — 34. — P. 713–716.
15. *Hertzog C.* Aging, information processing speed, and intelligence // Annual review of gerontology and Geriatrics. — V. 11 / Ed. K. W. Schaie. — New York: Springer, 1992. — P. 55–79.
16. *Osterberg E., Blomquist L., Krakau I. et al.* A population study on irritable bowel and mental health // Scand. J. Gastroenterol. — 2000. — 35, № 3. — P. 264–268.
17. *Salthouse T. A.* Speed behavior and its implications for cognition // Handbook of the psychology of aging / Eds: J. E. Birren, K. W. Schaie. — New York: Van Nostrand Reinhold, 1985. — P. 400–426.

Поступила 09.07.2009

## **EFFECTS OF CHANGES IN THE ORGANISM'S FUNCTION DURING AGING ON THE COGNITIVE PROCESSES**

**N. A. Prokopenko**

State Institution “D. F. Chebotarev Institute of Gerontology AMS Ukraine”,  
04114 Kyiv

Age-related changes of the cardiovascular, neural-muscular and respiratory systems and their role in the development of cognitive disturbances were investigated in 123 workers of intellectual labor aged 20–79 and 75 long-living subjects using psychophysiological testing. The periods of decrease of organism's adaptive capacities (50–59 years for men and 40–49 and 60–69 for women) were revealed based on the data of age-related changes in the index of cardiovascular activity; they serve a prognostically unfavorable sign of development of cognitive disturbances. The differentiation of long-living subjects based on results of MMSE test revealed an increased diastolic arterial blood pressure in persons with moderate cognitive disturbances vs. patients with age-dependent decrease of memory.

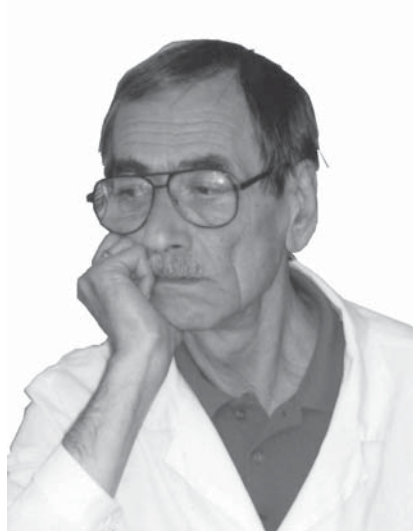


# НЕКРОЛОГ

---

---

## АЛЕКСАНДР ЯКОВЛЕВИЧ ЛИТОШЕНКО



21 ноября 2009 г. на 70 году ушел из жизни известный украинский биохимик и геронтолог, руководитель лаборатории молекулярной и клеточной биологии Института геронтологии им. акад. Д. Ф. Чеботарева АМН Украины, доктор биологических наук Александр Яковлевич Литошенко.

А. Я. Литошенко родился 12 мая 1940 г. в Киеве. В 1964 г. он закончил лечебный факультет Киевского медицинского института. В этом же году поступил в ординатуру в лабораторию биохимии Института геронтологии АМН СССР, с которым была связана вся его последующая научная и творческая деятельность. В 1971 г. А. Я. Литошенко защитил кандидатскую диссертацию. С 1969 г. — младший, а с 1973 г. — старший научный сотрудник лаборатории биохимии. С 1981 г. — и.о. руководителя, а с 1986 г. — руководитель лаборатории молекулярной биологии Института геронтологии. В 1985 г. защитил докторскую диссертацию. Автор свыше 200 научных публикаций.

Основные научные интересы А. Я. Литошенко были тесно связаны с изучением механизмов старения. В своей кандидатской диссертации, посвященной анализу возрастных особенностей путей образования энергии при мышечной деятельности, А. Я. Литошенко было выявлено, что в

процессе старения изменяется соотношение гликолитического и дыхательного путей образования энергии в пользу первого, что сокращает диапазон адаптационных возможностей организма. Впоследствии, в своей докторской диссертации, посвященной анализу энергетики и биогенеза митохондрий при старении, А. Я. Литошенко показал роль происходящего с возрастом разобщения взаимосвязи митохондриального и ядерного геномов, которое приводит к нарушениям синтеза ферментов дыхательной цепи, лежащим в основе снижения энергетического обмена в процессе старения.

А.Я. Литошенко была разработана и обоснована широко признанная научной общественностью гипотеза о значении свободнорадикального повреждения митохондрий как одного из ведущих механизмов старения клетки, что явилось фундаментальным вкладом в современную биологию старения.

Существенный вклад внес А.Я. Литошенко и в развитие таких направлений геронтологии, как изучение возрастных изменений структуры и функции хроматина, механизмов клеточного апоптоза, экспериментальное моделирование ускоренного старения и др.

А.Я. Литошенко являлся членом Ученого совета Института геронтологии, членом специализированных советов по защите диссертаций при Институте геронтологии, Институте эндокринологии и обмена веществ АМН Украины, Институте биохимии НАН Украины. В качестве консультанта ВОЗ он вел курс лекций по геронтологии в различных мировых научных центрах. Александр Яковлевич был неординарным, высоко эрудированным человеком не только в области биохимии и молекулярной биологии, он прекрасно знал классическую и современную литературу, живопись и музыку.

А.Я. Литошенко был талантливым ученым, требовательным руководителем, отзывчивым и верным другом. Память о нем навсегда сохранится в сердцах всех друзей и коллег, многие годы шедших с ним рядом.

# НОВЫЕ КНИГИ

## Издано в СНГ

- Ахаладзе Н. Г., Ена Л. М.* Биологический возраст человека: оценка темпа старения, состояния здоровья и жизнеспособности. — Киев, Ирпень: ВТФ «Перун», 2009. — 224 с.
- Безруков В. В., Купраш, Л. П., Петриченко А. Ю. та ін.* Лікарські засоби, що застосовуються при серцево-судинних захворюваннях у людей літнього віку. — К.: Ін-т геронтології, 2009. — 148 с.
- Геронтологические чтения-2009: Сб. мат-лов очно-заочной конф. / Под ред. К. И. Процаева, А. Н. Ильницкого.* — Белгород-Новополюцк: БелГУ, ПГУ, 2009. — 31 с.
- Голубев А. Г.* Биология продолжительности жизни и старения. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. — 288 с.
- Денисова Т. П., Малинова Л. И.* Клиническая геронтология: Избранные лекции. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. — 252 с.
- Екстрапірамідні захворювання та вік: Тези доп. наук.-практ. конф. (Київ, 24–25 вересня 2009 р.).* — К.: ІОЦ АЛКОН Укр., 2009. — 137 с.
- Мякотных В. С.* Патология нервной системы у ветеранов современных военных конфликтов. — Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2009. — 322 с.
- Процаев К. И., Варавина Л. Ю., Ильницкий А. Н.* Обеспечение качества оториноларингологической помощи пожилым. — Белгород: БелГОРАН, 2009. — 123 с.

## Издано за рубежом

- Affective, behavior, and cognitive disorders in the elderly: Selected papers presented at the 5<sup>th</sup> International meeting on Affective, behavior, and cognitive disorders in the elderly (Verona, Italy, Feb. 26-28, 2009) // Arch. Gerontol. Geriatr.* — 2009. — **49**, suppl. 1. — 254 p.
- Geriatric dosage handbook: Including clinical recommendations and monitoring guidelines / Eds: T. P. Semla, J. L. Beizer, M. D. Higbee.* — Lexi-Comp, Inc., 2009. — 2063 p.
- 19-th IAGG World congress of gerontology and geriatrics (Paris, 5-9 July 2009): Abstract book // J. Nutrition, Health & Aging.* — 2009. — **13**, suppl. 1. — 794 p.

## Содержание 18 тома, 2009 г.

### VIII Международный симпозиум “Биологические механизмы старения” (Харьков, 21-24 мая 2008 г.)

<i>Гончарова Н. Д.</i> Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система и надежность антиоксидантной ферментной защиты при старении и стрессе у самок макак-резусов разного возраста.....	1, 41
<i>Деев А. И., Бухарова Е. В.</i> Проблемы определения темпа старения человека .....	1, 8
<i>Кольцов В. К.</i> Теория надежности и старение: стохастическая реализация генетической программы .....	1, 26
<i>Кременцова А. В., Конрадов А. А.</i> Возможные границы пластичности кривых выживания людей и лабораторных животных .....	1, 20
<i>Куликов А. В., Смирнова Г. Н., Архипова Л. В., Климова Е. М., Сухих Г. Т.</i> Трансплантационные способы замедления необратимой возрастной атрофии тимуса .....	1, 37
<i>Кульчицкий О. К., Потапенко Р. И., Новикова С. Н., Степанова О. В., Бурчинская М. К.</i> Возрастные особенности влияния иммобилизационного стресса на состояние системы монооксида азота у крыс .....	1, 51
<i>Менянова Н. Г.</i> Влияние калорийно ограниченной диеты на липидный метаболизм и процессы пролиферации в регенерирующей печени крыс разного возраста.....	1, 78
<i>Никитченко Ю. В.</i> Роль алиментарных факторов в возрастных изменениях прооксидантно-антиоксидантной системы организма.....	1, 72
<i>Падалко В. И., Леонова И. С., Козлова Е. В.</i> Влияние калорийно ограниченной диеты на продолжительность жизни и некоторые показатели биологического возраста <i>Drosophila melanogaster</i> .....	1, 64
<i>Халявкин А. В., Крутько В. Н.</i> Системные и индуцированные механизмы старения .....	1, 3
<i>Хохлов А. Н.</i> Тестирование геропротекторов в экспериментах на клеточных культурах: за и отив.....	1, 32
<i>Швец В. Н., Давыдов В. В.</i> Изменения состояния пула пиридиновых коферментов в сердце крыс разного возраста при стрессе .....	1, 60

### Биология старения

<i>Грабовецкая Е. Р., Давыдов В. В.</i> Возрастные особенности изменения активности ферментов утилизации альдегидов в митохондриях сердца крыс при стрессе.....	2, 166
<i>Грабовецкая Е. Р., Давыдов В. В.</i> Возрастные особенности модуляции глутатион-трансферазной активности постмитохондриальной фракции миокарда крыс возникающими при стрессе факторами .....	3, 295
<i>Дубилей Т. А., Паришков А. В., Рушкевич Ю. Е., Пишель И. Н., Мигован С. А., Бадова Т. А., Тушинская Т. В.</i> Возрастные особенности влияния бактериального липополисахарида на реактивность изолированной сосудистой полоски и экспрессию генов маркеров воспаления у мышей со стрептозотоциновым диабетом .....	2, 174

<i>Дужак Г. В., Коркушко О. В.</i> Возрастные особенности изменений реологических свойств крови при введении адреналина.....	4, 373
<i>Кирик В. М.</i> Регенераторний потенціал гемопоетичних стовбурових клітин різного ступеня зрілості в ранні терміни після опромінення у мишей різного віку лінії <i>CBA/CA</i> .....	1, 87
<i>Коркушко О. В., Писарук А. В., Асанов Э. О., Чеботарев Н. Д.</i> Возрастные особенности реакции гемодинамики и вариабельности ритма сердца на ортостатическое воздействие в условиях гипоксии .....	2, 160
<i>Левашов М. И.</i> Возрастные изменения компактной кости крыс-самцов линии Вистар .....	3, 301
<i>Медведев Ж. А.</i> Обеспечивает ли клонирование соматических клеток взрослых животных полное омоложение? .....	3, 261
<i>Медведев Ж. А.</i> Существуют ли гены долгожительства?.....	2, 133
<i>Писарук А. В.</i> Онтогенетические часы: возможный молекулярно-генетический механизм .....	4, 355
<i>Пішель І. М., Євтушенко О. О., Леонов Ю. І., Григор'єва Н. В., Орлик Т. В., Шитіков Д. В., Ахаладзе М. Г., Варус В. І., Поворознюк В. В., Бутенко Г. М.</i> Зв'язок <i>Bsm-1</i> та <i>Tag</i> -поліморфізму гена рецептора вітаміну <i>D</i> з ризиком виникнення переломів у жінок у постменопаузальному періоді .....	2, 150
<i>Родніченко А. Є., Андріанова Л. Ф., Бутенко Г. М.</i> Особливості імунної відповіді у мишей різних генотипів та віддалені наслідки застосування імуноτροпних препаратів у ранньому віці.....	3, 280
<i>Рушкевич Ю. Е., Дубилей Т. А.</i> Повреждение эмоциогенных зон гипоталамуса и продолжительность жизни крыс .....	4, 381

## Гериатрия

<i>Асанов Э. О.</i> Влияние гипоксических тренировок на толерантность к физической нагрузке и экономичность работы системы гемодинамики у людей пожилого возраста .....	3, 323
<i>Ахаладзе Н. Г., Ена Л. М.</i> Взаимосвязь некоторых форм хронической патологии и биологического возраста .....	2, 187
<i>Безверха І. С., Зайка М. У., Пантелеймонова Т. М., Шарбура Л. Б.</i> Особливості застосування вітамінних препаратів у геріатричній практиці (огляд літератури).....	1, 104
<i>Болтіна І. В.</i> Вікові особливості співвідношення рівня ситуативної тривожності та значень цитогенетичних показників у лімфоцитах периферичної крові.....	3, 328
<i>Болтіна І. В.</i> Вплив шкідливих чинників та хронічної патології на цитогенетичні показники лімфоцитів периферичної крові у людей різного віку.....	4, 433
<i>Бурчинський С. Г.</i> Наукометричний аналіз сучасних пріоритетів і тенденцій розвитку геріатричної неврології та психіатрії.....	1, 97
<i>Іщук В. О., Бугайова О. І.</i> Вплив інтервальних нормобаричних гіпоксичних тренувань на серцево-судинну систему та електричну стабільність міокарда літніх хворих на ішемічну хворобу серця .....	2, 223
<i>Карасевич Н. В.</i> Особенности мозгового кровообращения у больных болезнью Паркинсона среднего и пожилого возраста .....	2, 200
<i>Кондратюк В. Є.</i> Статеві відмінності структурно-функціонального стану серця та судин, системної та інтракардіальної гемодинаміки, біоелектричної активності та гомогенності міокарда у хворих на гіпертонічну хворобу літнього віку із супутнім цукровим діабетом 2 типу .....	2, 210

<i>Коркушко О. В., Шатило В. Б., Чижова В. В., Ищук В. А.</i> Роль інсулінорезистентності в розвитку дисліпидемії у людей пожилого віку	4, 393
<i>Лишневская В. Ю., Покрова Е. В.</i> Особенности системы гемостаза у пациентов пожилого возраста с ишемической болезнью сердца и фибрилляцией предсердий	1, 121
<i>Опанасенко М. С., Конік Б. М., Палвода М. Г., Терешкович О. В., Калениченко М. І., Бичковський В. Б.</i> Застосування перикардiального жиру на судинній нiжцi для профiлактики пiсляоперацiйних ускладнень у торакальних хворих рiзного вiку	2, 240
<i>Опанасенко М. С., Конік Б. М., Палвода М. Г., Терешкович О. В., Бичковський В. Б., Калениченко М. І., Демус Р. С., Леванда Л. І., Кононенко В. А.</i> Клінічний досвід використання відеоторакоскопії для діагностики та лікування захворювань органів грудної порожнини у хворих різного віку	3, 312
<i>Пішель І. М., Євтушенко О. О., Леонов Ю. І., Григор'єва Н. В., Орлик Т. В., Шитков Д. В., Ахаладзе М. Г., Варус В. І., Поворознюк В. В., Бутенко Г. М.</i> Залежність мінеральної щільності кісткової тканини від $Xba$ -поліморфізму гена рецептора естрогена $ER1\alpha$ у жінок літнього віку	4, 403
<i>Поворознюк В. В., Нішкунмай О. І.</i> Зв'язок мінеральної щільності кісткової тканини та стану ліпідного обміну у жінок залежно від тривалості пост менопаузи	4, 412
<i>Рихліцька К. В., Коломоєць М. Ю.</i> Зміни мікробного пейзажу мокротиння у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень на фоні дисбіозу кишечника за умов атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій	4, 425
<i>Тодоріко Л. Д.</i> Особливості цитокинової регуляції та кооперації при хронічних обструктивних захворюваннях легень у літньому та старечому віці залежно від функціональної активності цитоподібної залози та рівня кортизолу	2, 230

## Социальная геронтология и герогиена

<i>Герасимов И. Г.</i> Продолжительность жизни детей в зависимости от возраста родителей	3, 342
<i>Прокопенко Н. А.</i> Влияние изменений функционального состояния организма при старении на когнитивные процессы	4, 442
<i>Романюк Ю. А.</i> Аналіз структури смертності та тривалості життя пенсіонерів Міністерства оборони України	2, 251
<i>Чайковська В. В., Єгорова Л. В.</i> Потреби літніх людей у різних видах медико-соціальної допомоги в умовах територіального центру соціального обслуговування пенсіонерів	3, 334

## Хроника

Академику АМН України О. В. Коркушко – 80 лет	1, 126
---	--------

## Некролог

Александр Яковлевич Литошенко	4, 449
-------------------------------	--------

<b>Новые книги</b>	1, 129
.....	2, 251
.....	3, 351
.....	4, 451

## Авторский указатель

- Андриянова Л. Ф. **3**, 280  
 Архипова Л. В. **1**, 37  
 Асанов Э. О. **2**, 160; **3**, 323  
 Ахаладзе М. Г. **2**, 150, 187; **4**, 403  
 Бадова Т. А. **2**, 174  
 Безверха І. С. **1**, 104  
 Бичковський В. Б. **2**, 240; **3**, 312  
 Болтіна І. В. **3**, 328; **4**, 433  
 Бугайова О. І. **2**, 223  
 Бурчинская М. К. **1**, 51  
 Бурчинський С. Г. **1**, 97  
 Бутенко Г. М. **2**, 150; **3**, 280; **4**, 403  
 Бухарова Е. В. **1**, 8  
 Варус В. І. **2**, 150; **4**, 403  
 Герасимов И. Г. **3**, 342  
 Гончарова Н. Д. **1**, 41  
 Грабовецкая Е. Р. **2**, 166; **3**, 295  
 Григор'єва Н. В. **2**, 150; **4**, 403  
 Давыдов В. В. **1**, 60; **2**, 166; **3**, 295  
 Деев А. И. **1**, 8  
 Демус Р. С. **3**, 312  
 Дубилей Т. А. **2**, 174; **4**, 381  
 Дужак Г. В. **4**, 373  
 Ена Л. М. **2**, 187  
 Євтушенко О. О. **2**, 150; **4**, 403  
 Єгорова Л. В. **3**, 334  
 Заїка М. У. **1**, 104  
 Іщук В. О. **2**, 223; **4**, 393  
 Калениченко М. І. **2**, 240; **3**, 312  
 Карасевич Н. В. **2**, 200  
 Кирик В. М. **1**, 87  
 Климова Е. М. **1**, 37  
 Козлова Е. В. **1**, 64  
 Коломоець М. Ю. **4**, 425  
 Кольтовер В. К. **1**, 26  
 Кондратюк В. Є. **2**, 210  
 Конік Б. М. **2**, 240; **3**, 312  
 Кононенко В. А. **3**, 312  
 Конрадов А. А. **1**, 20  
 Коркушко О. В. **2**, 160; **4**, 373, 393  
 Кременцова А. В. **1**, 20  
 Крутько В. Н. **1**, 3  
 Куликов А. В. **1**, 37  
 Кульчицкий О. К. **1**, 51  
 Леванда Л. І. **3**, 312  
 Левашов М. И. **3**, 301  
 Леонов Ю. І. **2**, 150; **4**, 403  
 Леонова И. С. **1**, 64  
 Лишнеvская В. Ю. **1**, 121  
 Медведев Ж. А. **2**, 133; **3**, 261  
 Мензянова Н. Г. **1**, 78  
 Мигован С. А. **2**, 174  
 Никитченко Ю. В. **1**, 72  
 Нішкумай О. І. **4**, 412  
 Новикова С. Н. **1**, 51  
 Опанасенко М. С. **2**, 240; **3**, 312  
 Орлик Т. В. **2**, 150; **4**, 403  
 Падалко В. И. **1**, 64  
 Палівода М. Г. **2**, 240; **3**, 312  
 Пантелеймонова Т. М. **1**, 104  
 Паршиков А. В. **2**, 174  
 Писарук А. В. **2**, 160; **4**, 355  
 Пишель И. Н. **2**, 174, 150; **4**, 403  
 Поворознюк В. В. **2**, 150; **4**, 403, 412  
 Покрова Е. В. **1**, 121  
 Потапенко Р. И. **1**, 51  
 Прокопенко Н. А. **4**, 442  
 Рихліцька К. В. **4**, 425  
 Родніченко А. Є. **3**, 280  
 Романюк Ю. А. **2**, 251  
 Рускевич Ю. Е. **2**, 174; **4**, 381  
 Смирнова Г. Н. **1**, 37  
 Степанова О. В. **1**, 51  
 Сухих Г. Т. **1**, 37  
 Терешкович О. В. **2**, 240; **3**, 312  
 Тодоріко Л. Д. **2**, 230  
 Тушинская Т. В. **2**, 174  
 Халявкин А. В. **1**, 3  
 Хохлов А. Н. **1**, 32  
 Чайковська В. В. **3**, 334  
 Чеботарев Н. Д. **2**, 160  
 Чижова В. В. **4**, 393  
 Шарабура Л. Б. **1**, 104  
 Шатило В. Б. **4**, 394  
 Швец В. Н. **1**, 60  
 Шитіков Д. В. **2**, 150; **4**, 403