

УДК 612.66

DOI 10.24412/2312-2935-2023-1-189-204

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ (НА КЛИНИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ)

*К.П. Кравченко¹, Д.С. Медведев¹, С.Н. Морозкина², Д.В. Троцюк^{3,4}, Г.И. Гурко¹,
О.А. Рождественская⁵*

¹ АНО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», г. Санкт-Петербург

² ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

³ ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород

⁴ ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», г. Санкт-Петербург

⁵ Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, г. Москва

Введение. Причиной смерти лиц старших возрастных групп более чем в 30% является патология сердца и сосудов. Одним из направлений для разработки новых методов диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний является поиск сигнальных молекул и определение их роли и значения в патогенезе этой патологии. У лиц старше 60 лет в последние десятилетия значительную долю составляет дилатационная кардиомиопатия (ДКМП). Среди сигнальных молекул, которые по данным литературы могут иметь прогностическое значение и быть высокоинформативными при ДКМП, выделяют белки сиртуины (типы 1, 2, 3, 6), белки p16 и p21, Bcl-2-ассоциированный X-белок (BAX).

Цель исследования: определить диагностические маркеры преждевременного старения организма на клинической модели дилатационной кардиомиопатии.

Материалы и методы: экспрессия сигнальных молекул (сиртуины 1,2,3,6, белки p16, p21, BAX) оценивалась в культурах клеток миокарда («молодая» и «состаренная»). Также проведено исследование экспрессии указанных сигнальных молекул в буккальном эпителии и аутопсийном материале миокарда людей пожилого, среднего и старческого возраста с ДКМП. В качестве контрольной группы использовались материалы, полученные от людей, не имевших сердечно-сосудистой патологии.

Результаты и обсуждение. Выявлен сходный профиль изменения экспрессии сигнальных молекул - снижение экспрессии сиртуинов, увеличение p16, p21 и BAX в культурах клеток миокарда, буккальном эпителии и аутопсийном материале при дилатационной кардиомиопатии.

Выводы. С возрастом наблюдается уменьшение экспрессии сиртуинов 1,2,3,6. Одновременно происходит увеличение экспрессии проапоптотических протеинов и маркеров клеточного старения p16, p21, p53. В нормальной ткани миокарда и культурах кардиомиоцитов этот процесс выражен слабо, тогда как при ускоренном старении, вызванном развитием дилатационной кардиомиопатии, эта тенденция нарастает. Это позволяет расценивать сиртуины 1,2,3,6, белки p16, p21 и BAX в качестве ключевых маркеров, отражающих ускоренное старение кардиомиоцитов.

Ключевые слова: дилатационная кардиомиопатия, преждевременное старение, сигнальные молекулы, буккальный эпителий, сиртуины, BAX, p16, p21

DIAGNOSTIC MARKERS OF PREMATURE AGING (ON A CLINICAL MODEL OF DILATED CARDIOMYOPATHY)

K.P. Kravchenko¹, D.S. Medvedev¹, S.N. Morozkina², D.V. Trotsyuk^{3,4}, G.I. Gurko¹, O.A. Rozhdestvenskaya⁵

¹*Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and gerontology, Saint-Petersburg*

²*St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg*

³*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State University», Belgorod*

⁴*Private University «Saint Petersburg Medico-Social Institute», Saint-Petersburg,*

⁵*Academy of postgraduate education of FSBI FNCC FMBA of Russia, Moscow*

Introduction. The cause of death of older age groups in more than 30% is pathology of the heart and blood vessels. One of the directions for the development of new methods for the diagnosis and treatment of cardiovascular diseases is the search for signaling molecules and the determination of their role and significance in the pathogenesis of this pathology. In people over 60 years of age, dilated cardiomyopathy (DCMP) has accounted for a significant proportion in recent decades. Among the signaling molecules that, according to the literature, may have prognostic value and be highly informative in DCMP, sirtuin proteins (types 1, 2, 3, 6), proteins p16 and p21, Bcl-2-associated X-protein (BAX) are isolated.

The purpose of the study to determine diagnostic markers of premature aging of the body on a clinical model of dilated cardiomyopathy.

Materials and methods: the expression of signaling molecules (sirtuins 1,2,3,6, proteins p16, p21, and BAX) was evaluated in cultures of myocardial cells ("young" and "aged"). The expression of these signaling molecules in buccal epithelium and autopsy material of the myocardium of elderly, middle-aged and senile people with DCMP was also studied. As a control group, materials obtained from people who did not have cardiovascular pathology were used.

Results and discussion: A similar profile of changes in the expression of signaling molecules was revealed - a decrease in the expression of sirtuins, an increase in p16, p21 and BAX in myocardial cell cultures, buccal epithelium and autopsy material in dilated cardiomyopathy.

Conclusions. With age, there is a decrease in the expression of sirtuins 1,2,3,6. At the same time, there is an increase in the expression of proapoptotic proteins and markers of cellular aging p16, p21, p53. In normal myocardial tissue and cardiomyocyte cultures, this process is poorly expressed, whereas with accelerated aging caused by the development of dilated cardiomyopathy, this trend increases. This makes it possible to regard sirtuins 1,2,3,6, proteins p16, p21 and BAX as key markers reflecting accelerated aging of cardiomyocytes.

Keywords: dilated cardiomyopathy, premature aging, signaling molecules, buccal epithelium, sirtuins, BAX, p16, p21.

Введение. Несмотря на многочисленные усилия, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смертности во всем мире: в 2019 году они унесли жизни почти 18 миллионов человек [1]. По данным ВОЗ, более чем в 30% случаев причиной смерти лиц старших возрастных групп является патология сердца и сосудов. Среди патологий сердца у лиц старше 60 лет значительную долю составляет дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) [2].

Одним из направлений для разработки новых методов диагностики и лечения ССЗ является поиск сигнальных молекул для выявления у людей разного возраста ДКМП и определение их роли и значения в патогенезе этой патологии. Среди сигнальных молекул, которые по данным литературы могут иметь прогностическое значение и быть высокоинформативными при ДКМП, выделяют белки сиртуины (типы 1, 2, 3, 6), белки p16 и p21, Bcl-2-ассоциированный X-белок (BAX). Сиртуин-1 (SIRT1) и сиртуин-6 (SIRT6) имеют антиатерогенное действие, уменьшают внутрисосудистое воспаление и ремоделирование миокарда при различных сердечно-сосудистых заболеваниях [3, 4]. Сиртуин-2 (SIRT2) считается действует важнейшим кардиопротектором, значимое снижение его уровня в кардиомиоцитах и сосудистой стенке происходит по мере старения, а также у пациентов с гипертрофией миокарда, сердечной недостаточностью, эндокринными нарушениями [5, 6, 7]. Сиртуин-3 (SIRT3) также защищает кардиомиоциты от воздействия окислительного стресса, тормозит развитие гипертрофии, поддерживает уровень АТФ в миокарде и регулирует метаболизм углеводов и липидов [3]. Усиление экспрессии белка p16 ассоциировано с ускоренным старением клеток, в то время как белок p21 участвует в регуляции воспалительного и окислительного стресса [8]. Bcl-2-ассоциированный X-белок (BAX) обеспечивает тканевой гомеостаз, участвует в реакциях апоптоза, нарушение его регуляции ассоциировано с aberrантной гибелью клеток [9, 10].

Цель исследования: определить диагностические маркеры преждевременного старения организма на клинической модели дилатационной кардиомиопатии.

Материалы и методы исследования. Для исследования были использованы три вида материала: культуры клеток миокарда, буккальный эпителии (БЭ), аутопсийный материал миокарда. Во всех материалах оценивалась экспрессия сигнальных молекул SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT6, маркеров старения p16, p21 и маркера апоптоза BAX.

Ткань миокарда человека для создания культур (диаметр 0,2 см, 4 фрагмента) была получена из СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» (г. Санкт-Петербург)

при биопсии сердца от 3х пациентов с ДКМП мужского пола среднего возраста (52,3±2,6 лет). Контролем служила культура нормальных кардиомиоцитов человека (линия Girardi Heart, полученная из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Среда для культивирования кардиомиоцитов состояла из 86,5% EMEM (Eagle's minimal essential medium), 10% FBS, 1% NEAA (Essential Amino Acids Amount), 1,5% HEPES, 1% PES, L-глутамина. Все культуры выращивали до 3 пассажа («молодые» культуры) и до 10 пассажа («состаренные» культуры). 10 пассаж был выбран в качестве «состаренных» культур экспериментально, т.к. при последующих пересевах большая часть клеток культуры вступала в апоптоз.

БЭ и аутопсийный материал были получены у пациентов с установленным диагнозом «дилатационная кардиомиопатия», в качестве группы сравнения были выбраны пациенты, не имевшие заболеваний сердечно-сосудистой системы. Диагноз ДКМП устанавливался на основе клинико-anamnestических данных, результатов ЭхоКГ, сцинтиграфии, МРТ и биопсии миокарда. Взятие материалов для исследования было проведено на базе СПб ГБУЗ «Городская больница Святого великомученика Георгия» (г. Санкт-Петербург). Были выделены возрастные группы среднего, пожилого и старческого возраста в соответствии с классификацией ВОЗ, 2019г. Распределение пациентов, у которых проводилось исследование БЭ и аутопсийного материала, по возрасту и наличию ДКМП представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение пациентов, у которых проводилось исследование БЭ и аутопсийного материала, по возрасту и наличию ДКМП (БЭ/аутопсийный материал миокарда)

	<i>Возрастные группы обследуемых</i>					
	<i>Средний возраст (45-59 лет)</i>		<i>Пожилой возраст (60-74 лет)</i>		<i>Старческий возраст (75-89 лет)</i>	
	<i>Норма</i>	<i>ДКМП</i>	<i>Норма</i>	<i>ДКМП</i>	<i>Норма</i>	<i>ДКМП</i>
Количество пациентов	22/20	37/35	23/25	34/35	19/18	39/42

Для оценки результатов иммуноцитохимического и иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Olympus

VX40, цифровой камеры Olympus, персонального компьютера на базе Intel Pentium 5 и программного обеспечения «Videotest Morphology 5.2». В каждом случае анализировали 5 полей зрения при x200. Площадь экспрессии рассчитывалась как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражалась в процентах для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием и как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными ядрами к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией.

Статистическая обработка проводилась в программе Statistica 7.0. При помощи критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test) было установлено, что все выборки соответствуют нормальному распределению. Проверки статистической однородности выборок проводилась с использованием непараметрических процедуры однофакторного дисперсионного анализа (критерий Крускала–Уоллиса). Критический уровень достоверности нулевой гипотезы по критерию Стьюдента (об отсутствии различий) принимали равным 0,01.

Результаты исследования. В первой части исследования была проведена оценка уровня экспрессии основных сигнальных молекул в культурах кардиомиоцитов. Было выявлено, что экспрессия SIRT1 в «молодой» культуре миокарда составила $11,35 \pm 0,52\%$, в «состаренной» уменьшилась в 2,5 раза и была равна $4,57 \pm 0,28\%$. В культуре клеток миокарда, полученных от пациентов, имевших ДКМП, площадь экспрессии в «молодых» культурах была в 1,8 раза меньше ($6,21 \pm 0,71\%$), в «состаренных» культурах - в 4,1 раза меньше ($1,09 \pm 0,18\%$). Экспрессия SIRT2 в «молодой» культуре миокарда составила $15,29 \pm 1,07\%$, в «состаренной» уменьшилась в 2,3 раза ($6,58 \pm 0,78\%$). В культуре клеток миокарда, полученных от пациентов, имевших ДКМП, площадь экспрессии в «молодых» культурах была в 2 раза меньше ($7,34 \pm 0,65\%$), в «состаренных» культурах - в 2,4 раза меньше ($2,75 \pm 0,41\%$). Экспрессия SIRT3 в «молодой» культуре миокарда составила $24,13 \pm 1,07\%$, в «состаренной» $12,32 \pm 0,93\%$. В культуре миокарда, полученной от пациентов с ДКМП, площадь экспрессии уменьшилась в «молодых» культурах в 1,4 раза ($16,72 \pm 0,65\%$), в «состаренных» - в 3,4 раза ($3,58 \pm 0,35\%$). Экспрессия SIRT6 в «молодой» культуре миокарда составила $15,85 \pm 1,34\%$, в «состаренной» культуре $10,35 \pm 0,75\%$. В культуре миокарда, полученной от пациентов с ДКМП, площадь экспрессии уменьшилась в «молодых» культурах в 2 раза ($7,64 \pm 0,47\%$), в «состаренных» культурах - в 1,7 раза ($5,97 \pm 0,65\%$).

Площадь экспрессии p16 в «молодой» культуре кардиомиоцитов в норме была равна $25,64 \pm 1,77\%$, а в «состаренной» культуре в 1,5 раза больше ($39,92 \pm 2,08\%$), в то время как

экспрессия p21 в аналогичных культурах была практически сопоставима ($9,54 \pm 0,12\%$ и $12,36 \pm 0,11\%$ соответственно). При ДКМП площадь экспрессии p16 в «молодой» культуре кардиомиоцитов превышала таковую в нормальной культуре 1,3 раза ($33,75 \pm 1,79\%$), площадь экспрессии p21 была в 1,2 раза выше ($11,32 \pm 0,16\%$). В «состаренной» культуре кардиомиоцитов, полученных от пациентов с ДКМП, экспрессия p16 увеличилась в 1,1 раза по сравнению с нормой и составила $45,68 \pm 2,16\%$, площадь экспрессии p21 увеличилась в 1,4 раза ($17,45 \pm 0,14\%$).

Площадь экспрессии VAX «состаренной» культуре в 1,7 раза превышала таковую в «молодой» культуре ($30,06 \pm 2,12\%$ и $17,35 \pm 1,51\%$ соответственно). При ДКМП площадь экспрессии VAX в «молодой» культуре кардиомиоцитов была больше в 1,3 раза ($23,54 \pm 1,45\%$), в «состаренной» - в 1,2 раза ($35,78 \pm 2,23\%$).

Во второй части исследования были проведены оценка экспрессии исследуемых сигнальных молекул у людей, не имевших ДКМП, в зависимости от возраста и сравнение полученных данных с пациентами соответствующих возрастных групп, имевшими ДКМП.

Согласно полученным данным, экспрессия сиртуинов с возрастом имеет тенденцию к уменьшению, более выраженное снижение отмечено у пациентов, имевших ДКМП, во всех возрастных группах. При исследовании БЭ площадь экспрессии SIRT1 у людей пожилого возраста была в 1,7 раза меньше, у людей старческого возраста в 3,3 раза меньше в сравнении обследуемыми среднего возраста. У пациентов с ДКМП экспрессия SIRT1 была статистически значимо ниже в сравнении с контрольной группой, по мере старения степень выраженности различий усиливалась. При исследовании аутопсийного материала миокарда была отмечена сходная тенденция. У обследуемых пожилого и старческого возраста экспрессия SIRT1 была ниже в 1,4 раза в пожилом возрасте и в 3 раза ниже в старческом возрасте. У пациентов, имевших ДКМП, отмечалась сходная тенденция в отношении более низкого уровня экспрессии SIRT1 с возрастом, при этом площадь экспрессии была в 2-2,6 раза меньше в сравнении с контрольными группами соответствующего возраста. Данные представлены в таблице 2.

Тенденция к снижению экспрессии с возрастом отмечалась и в отношении остальных исследуемых сиртуинов. В буккальном эпителии у людей пожилого возраста экспрессия SIRT2 была ниже в 2,3 раза, SIRT 3 в 1,9 раза, SIRT 6 в 2,2 раза в сравнении с обследуемыми среднего возраста; у людей пожилого возраста отмечено снижение данных сигнальных молекул в 4,1 раза, 3,2 раза и 2,6 раза соответственно. В аутопсийном материале экспрессия

SIRT2 была ниже в 1,3 раза в пожилом возрасте и в 1,8 раза в старческом возрасте при сравнении с контрольными группами соответствующего возраста; экспрессия SIRT3 ниже в 1,6 и 2,3 раза; экспрессия SIRT 6 в 1,3 и 1,7 раза ниже соответственно.

Таблица 2

Площадь экспрессии SIRT1 (%) в зависимости от возраста и наличия ДКМП

<i>Возрастная группа</i>	<i>Буккальный эпителий</i>		<i>Аутопсийный материал</i>	
	<i>ДКМП</i>	<i>Контрольная группа</i>	<i>ДКМП</i>	<i>Контрольная группа</i>
Средний возраст	6,23±0,95	12,48±1,08	14,28±1,35	31,54±2,23
Пожилой возраст	3,09±0,42	7,17±0,82	8,31±0,42	22,12±1,85
Старческий возраст	0,87±0,02	3,74±0,32	5,41±0,53	10,54±1,28

Статистически достоверное уменьшение сиртуинов 2,3,6 отмечено у пациентов, имевших ДКМП. В буккальном эпителии у людей с ДКМП экспрессия SIRT2, SIRT3, SIRT6 была статистически значимо ниже в сравнении с контрольной группой, по мере старения степень выраженности различий усиливалась. При исследовании аутопсийного материала миокарда у пациентов, имевших ДКМП, отмечалась сходная тенденция в отношении более низкого уровня экспрессии SIRT2 с возрастом, при этом площадь экспрессии была в среднем в 2 раза меньше в сравнении с контрольными группами соответствующего возраста. Более существенное снижение экспрессии было выявлено в отношении SIRT3: в 1,3 раза меньше у пациентов среднего возраста, в 2,5 раза меньше у пациентов пожилого возраста и в 5,6 раза меньше у пациентов старческого возраста. Экспрессия SIRT6 у пациентов среднего и пожилого возраста была в 1,6 раза меньше, старческого возраста – в 2 раза меньше в сравнении с соответствующими контрольными возрастными группами. Показатели экспрессии сиртуинов 2, 3, 6 в аутопсийном материале и буккальном эпителии в различных возрастных группах представлены в таблице 3.

Площадь экспрессии p21 в БЭ постепенно повышалась с возрастом, достигнув достоверных различий у пациентов старческого возраста. У людей среднего возраста данный показатель составил 6,11±0,75%, у людей пожилого возраста 8,07±1,12%, старческого возраста - 11,38±1,85%. Экспрессия p21 у людей с ДКМП была сопоставима в среднем и пожилом возрасте, достигая уровня статистической значимости у людей 75-89 лет. При исследовании аутопсийного материала миокарда отмечена сходная тенденция: площадь экспрессии p21 в среднем возрасте составляла 12,42±1,07%, в пожилом 16,09±0,17%, в

старческом $17,31 \pm 1,20\%$, различия со средним возрастом были статистически значимы. При ДКМП отмечена тенденция к увеличению p21: площадь экспрессии p21 была соответственно в 1,18, 1,02 и 1,05 раза больше по сравнению с данным показателем в норме в среднем, пожилом и старческом возрасте соответственно, однако значимых возрастных различий между возрастными группами пациентов с ДКМП выявлено не было.

Таблица 3

Площадь экспрессии сиртуинов 2, 3, 6 (%) в аутопсийном материале и буккальном эпителии в различных возрастных группах в зависимости от наличия ДКМП

Сигнальная молекула	Возрастная группа	Буккальный эпителий		Аутопсийный материал	
		ДКМП	Контрольная группа	ДКМП	Контрольная группа
SIRT2	Средний возраст	5,01±0,77	8,68±0,74	20,13±2,12	40,75±2,35
	Пожилой возраст	1,83±0,21	4,27±0,34	13,56±1,95	31,24±2,73
	Старческий возраст	0,75±0,09	2,12±0,05	9,54±1,08	22,37±1,85
SIRT3	Средний возраст	5,44±1,03	11,78±1,71	40,74±2,08	54,32±2,68
	Пожилой возраст	2,81±0,31	6,25±0,85	12,81±1,55	32,58±2,25
	Старческий возраст	1,15±0,08	3,72±0,44	4,15±0,78	23,55±2,05
SIRT6	Средний возраст	3,18±1,23	7,28±1,13	27,51±1,85	45,63±2,44
	Пожилой возраст	1,62±0,24	3,29±0,56	20,73±1,72	34,57±2,37
	Старческий возраст	0,54±0,03	2,75±0,35	12,35±1,12	25,54±2,35

В отношении экспрессии p16 в БЭ и аутопсийном материале было отмечено достоверное увеличение по мере старения у лиц, не имевших сердечно-сосудистых заболеваний, в 1,3-1,4 раза в пожилом возрасте и в 1,6-1,7 раза в старческом возрасте. У пациентов с ДКМП отмечен более низкий уровень экспрессии p16 в БЭ и аутопсийном материале во всех возрастных группах в сравнении с группами контроля; также отмечена тенденция к повышению экспрессии p16 с возрастом – данные представлены в таблице 4.

Экспрессия ВАХ в БЭ у людей среднего возраста, не имевших ДКМП, составила $3,15 \pm 0,94\%$, увеличиваясь в 1,6 раза у людей пожилого возраста и в 2,2 раза у людей старческого возраста. При исследовании аутопсийного материала отмечено увеличение экспрессии ВАХ в 1,5 и 1,8 раза соответственно. При ДКМП экспрессия ВАХ в БЭ у людей среднего, пожилого и старческого возраста в 0,6, 0,7 и 0,8 раза соответственно превышала

таковую в контрольных группах соответствующего возраста. В аутопсийном материале миокарда при ДКМП отмечено более значимое увеличение в сравнении с контрольными группами: в 1,7, 1,4 и 1,3 раза соответственно. Данные представлены в таблице 5.

Таблица 4

Площадь экспрессии p16 в аутопсийном материале и буккальном эпителии в различных возрастных группах в зависимости от наличия ДКМП

Возрастная группа	Буккальный эпителий		Аутопсийный материал	
	ДКМП	Контрольная группа	ДКМП	Контрольная группа
Средний возраст	8,77±1,03	7,49±1,14	32,37±2,17	25,53±1,17
Пожилой возраст	11,82±1,42	9,54±1,26	41,59±1,95	37,21±1,55
Старческий возраст	15,45±1,13	12,02±2,31	67,35±2,12	44,98±1,89

Таблица 5

Площадь экспрессии VAX в аутопсийном материале и буккальном эпителии в различных возрастных группах в зависимости от наличия ДКМП

Возрастная группа	Буккальный эпителий		Аутопсийный материал	
	ДКМП	Контрольная группа	ДКМП	Контрольная группа
Средний возраст	5,11±0,94	3,15±0,94	31,57±2,12	18,76±1,34
Пожилой возраст	6,71 ±1,05	5,02±0,77	40,92±2,75	28,09±1,05
Старческий возраст	7,91±1,23	6,84 ±1,24	47,18±2,07	34,72 ±1,78

Обсуждение. С патофизиологических позиций, ДКМП представляет собой окончательный общий морфологический результат различных биологических инсультов. Сочетание повреждения миоцитов и некроза, связанного с фиброзом миокарда, приводит к нарушению механической функции. Фиброз миокарда представляет собой одно из наиболее часто встречающихся патофизиологических явлений, сопутствующих ДКМП. В его основе лежит активация фибробластов, которые в норме входят в структуру клеточных элементов сердечной мышцы. Современные исследования показали основополагающее значение посттрансляционной регуляции процессов соединительно-тканной перестройки миокарда в развитии сердечной недостаточности при ДКМП [11].

В проведенном исследовании выявлено, что в культуре «молодых» кардиомиоцитов при дилатационной кардиомиопатии достоверно уменьшилась площадь экспрессии SIRT1, SIRT3 в 1,4-1,8 раза; SIRT2, SIRT6 в 2 раза; в культуре «состаренных» кардиомиоцитов при

дилатационной кардиомиопатии достоверно уменьшилась площадь экспрессии SIRT6 – в 1,7 раза, SIRT2 – в 2,4 раза, SIRT3 – в 3,4 раза, SIRT1 – в 4,1 раза. Патогенетически это объяснимо существенной ролью сиртуинов в уменьшении окислительных процессов на клеточном уровне, повышении толерантности к оксидативному стрессу, что может способствовать уменьшению ремоделирования миокарда [12, 13, 14, 15, 16, 17]. Результаты исследования площади экспрессии сиртуинов в буккальном эпителии и аутопсийном материале также подтверждают указанные литературные данные.

В ходе исследования отмечено достоверное увеличение площади экспрессии маркеров старения p16, p21 и маркера апоптоза BAX в культурах кардиомиоцитов, а также в буккальном эпителии и аутопсийном материале миокарда. Это объясняется тем, что согласно проведенным ранее исследованиям, длительная экспрессия p16 подталкивает клетки к старению, необратимой остановке клеточного цикла, что способствует клеточному старению [18]. Например, высокий уровень экспрессии p16 связан с старением эндотелиальных клеток роговицы человека [19]. Участие p21 в качестве регулятора/ингибитора таких процессов как транскрипция, апоптоз, репарация ДНК является важным моментом в патогенезе клеточного старения [20]. BAX является регулятором внутреннего (митохондриально регулируемого) пути клеточной гибели. Под действием апоптотических стимулов он активирует процесс клеточного апоптоза [21].

Дилатационная кардиомиопатия сопровождается развитием старения по патологическому типу, на фоне увеличения общей продолжительности жизни пациентов с этим заболеванием. Соответственно, ДКМП может рассматриваться как клиническая модель преждевременного старения организма человека.

Молекулярное понимание патогенеза ДКМП, наряду с диагностическими возможностями, открывает новые перспективы не только для персонализированной медицины, но и для разработки новых лечебных стратегий.

Выводы. С возрастом наблюдается уменьшение экспрессии маркеров SIRT1,2,3,6. Одновременно происходит увеличение экспрессии проапоптотических протеинов и маркеров клеточного старения p16, p21, p53. При отсутствии сердечно-сосудистой патологии в тканях миокарда и культурах кардиомиоцитов этот процесс выражен слабо, тогда как при ускоренном старении, ассоциированным с дилатационной кардиомиопатией, эта тенденция нарастает. Полученные данные показали, что при сердечно-сосудистой патологии происходит нарастание процессов клеточной гибели, что, в дальнейшем, приводит к

усилению выраженности признаков дисфункции миокарда. Это позволяет расценивать сиртуины 1,2,3,6, белки p16, p21 и BAX в качестве ключевых маркеров, отражающих ускоренное старение кардиомиоцитов.

Список литературы

1. World Health Organization. Cardiovascular Diseases (CVDs). Available at: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (Accessed January 18, 2022).
2. Алаева Е.Н., Нарусов О.Ю., Терещенко С.Н., и др. Диагностика и лечение дилатационной кардиомиопатии в повседневной клинической практике (данные первого российского регистра по дилатационной кардиомиопатии). Кардиологический вестник. 2014; 2:54-61.
3. Sun W, Liu C, Chen Q, et al. SIRT3: A New Regulator of Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:7293861. doi:10.1155/2018/7293861
4. Li X, Liu L, Li T, et al. SIRT6 in Senescence and Aging-Related Cardiovascular Diseases. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:641315. doi:10.3389/fcell.2021.641315
5. Taneja A, Ravi V, Hong JY, et al. Emerging roles of Sirtuin 2 in cardiovascular diseases. *FASEB J*. 2021;35(10):e21841. doi:10.1096/fj.202100490R
6. Sarikhani M, Maity S, Mishra S, et al. SIRT2 deacetylase represses NFAT transcription factor to maintain cardiac homeostasis. *J Biol Chem*. 2018;293(14):5281-5294. doi:10.1074/jbc.RA117.000915
7. Tang X, Chen XF, Wang NY, et al. SIRT2 Acts as a Cardioprotective Deacetylase in Pathological Cardiac Hypertrophy. *Circulation*. 2017;136(21):2051-2067. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028728
8. Huang S, Xu M, Liu L, et al. Autophagy is involved in the protective effect of p21 on LPS-induced cardiac dysfunction. *Cell Death Dis*. 2020;11(7):554. doi:10.1038/s41419-020-02765-7
9. Peña-Blanco A, García-Sáez AJ. Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *FEBS J*. 2018;285(3):416-431. doi:10.1111/febs.14186
10. Spitz AZ, Gavathiotis E. Physiological and pharmacological modulation of BAX. *Trends Pharmacol Sci*. 2022;43(3):206-220. doi:10.1016/j.tips.2021.11.001

11. Chothani S, Schäfer S, Adami E, et al. Widespread Translational Control of Fibrosis in the Human Heart by RNA-Binding Proteins. *Circulation*. 2019;140(11):937-951. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039596
12. Sarikhani M, Maity S, Mishra S, et al. SIRT2 deacetylase represses NFAT transcription factor to maintain cardiac homeostasis. *J Biol Chem*. 2018;293(14):5281-5294. doi:10.1074/jbc.RA117.000915
13. Gu W, Cheng Y, Wang S, et al. PHD Finger Protein 19 Promotes Cardiac Hypertrophy via Epigenetically Regulating SIRT2. *Cardiovasc Toxicol*. 2021;21(6):451-461. doi:10.1007/s12012-021-09639-0.
14. Sundaresan NR, Pillai VB, Wolfgeher D, et al. The deacetylase SIRT1 promotes membrane localization and activation of Akt and PDK1 during tumorigenesis and cardiac hypertrophy. *Sci Signal*. 2011;4(182):ra46. Published 2011 Jul 19. doi:10.1126/scisignal.2001465
15. Yuan Q, Zhan L, Zhou QY, et al. SIRT2 regulates microtubule stabilization in diabetic cardiomyopathy. *Eur J Pharmacol*. 2015;764:554-561. doi:10.1016/j.ejphar.2015.07.045
16. Tang X, Chen XF, Wang NY, et al. SIRT2 Acts as a Cardioprotective Deacetylase in Pathological Cardiac Hypertrophy. *Circulation*. 2017;136(21):2051-2067. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028728
17. Wang CH, Wei YH. Roles of Mitochondrial Sirtuins in Mitochondrial Function, Redox Homeostasis, Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):5266. doi:10.3390/ijms21155266
18. LaPak KM, Burd CE. The molecular balancing act of p16(INK4a) in cancer and aging. *Mol Cancer Res*. 2014;12(2):167-183. doi:10.1158/1541-7786.MCR-13-0350
19. Wang Y, Zang X, Wang Y, Chen P. High expression of p16INK4a and low expression of Bmi1 are associated with endothelial cellular senescence in the human cornea. *Mol Vis*. 2012;18:803-815.
20. Cazzalini O, Scovassi AI, Savio M, Stivala LA, Prosperi E. Multiple roles of the cell cycle inhibitor p21(CDKN1A) in the DNA damage response. *Mutat Res*. 2010;704(1-3):12-20. doi:10.1016/j.mrrev.2010.01.009
21. Klimentova EA, Suchkov IA, Shchulkin AV, Glazkova AP, Kalinin RE. Expression of Apoptotic Markers Bcl-2 and Bax in the Vascular Wall. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2021;13(2):46-50. doi:10.17691/stm2021.13.2.05

References

1. World Health Organization. Cardiovascular Diseases (CVDs). Available at: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (Accessed January 18, 2022).
2. Alaeva EN, Narusov OYU, Tereshchenko SN, i dr. Diagnostika i lechenie dilatacionnoj kardiomiopatii v povsednevnoj klinicheskoj praktike (dannye pervogo rossijskogo registra po dilatacionnoj kardiomiopatii) [Diagnosis and treatment of dilated cardiomyopathy in everyday clinical practice (data from the first Russian registry for dilated cardiomyopathy)]. *Kardiologicheskij vestnik* [Cardiological Bulletin]. 2014; 2:54-61. (In Russian)
3. Sun W, Liu C, Chen Q, et al. SIRT3: A New Regulator of Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:7293861. doi:10.1155/2018/7293861
4. Li X, Liu L, Li T, et al. SIRT6 in Senescence and Aging-Related Cardiovascular Diseases. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:641315. doi:10.3389/fcell.2021.641315
5. Taneja A, Ravi V, Hong JY, et al. Emerging roles of Sirtuin 2 in cardiovascular diseases. *FASEB J*. 2021;35(10):e21841. doi:10.1096/fj.202100490R
6. Sarikhani M, Maity S, Mishra S, et al. SIRT2 deacetylase represses NFAT transcription factor to maintain cardiac homeostasis. *J Biol Chem*. 2018;293(14):5281-5294. doi:10.1074/jbc.RA117.000915
7. Tang X, Chen XF, Wang NY, et al. SIRT2 Acts as a Cardioprotective Deacetylase in Pathological Cardiac Hypertrophy. *Circulation*. 2017;136(21):2051-2067. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028728
8. Huang S, Xu M, Liu L, et al. Autophagy is involved in the protective effect of p21 on LPS-induced cardiac dysfunction. *Cell Death Dis*. 2020;11(7):554. doi:10.1038/s41419-020-02765-7
9. Peña-Blanco A, García-Sáez AJ. Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *FEBS J*. 2018;285(3):416-431. doi:10.1111/febs.14186
10. Spitz AZ, Gavathiotis E. Physiological and pharmacological modulation of BAX. *Trends Pharmacol Sci*. 2022;43(3):206-220. doi:10.1016/j.tips.2021.11.001
11. Chothani S, Schäfer S, Adami E, et al. Widespread Translational Control of Fibrosis in the Human Heart by RNA-Binding Proteins. *Circulation*. 2019;140(11):937-951. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039596

12. Sarikhani M, Maity S, Mishra S, et al. SIRT2 deacetylase represses NFAT transcription factor to maintain cardiac homeostasis. *J Biol Chem.* 2018;293(14):5281-5294. doi:10.1074/jbc.RA117.000915
13. Gu W, Cheng Y, Wang S, et al. PHD Finger Protein 19 Promotes Cardiac Hypertrophy via Epigenetically Regulating SIRT2. *Cardiovasc Toxicol.* 2021;21(6):451-461. doi:10.1007/s12012-021-09639-0.
14. Sundaresan NR, Pillai VB, Wolfgeher D, et al. The deacetylase SIRT1 promotes membrane localization and activation of Akt and PDK1 during tumorigenesis and cardiac hypertrophy. *Sci Signal.* 2011;4(182):ra46. Published 2011 Jul 19. doi:10.1126/scisignal.2001465
15. Yuan Q, Zhan L, Zhou QY, et al. SIRT2 regulates microtubule stabilization in diabetic cardiomyopathy. *Eur J Pharmacol.* 2015;764:554-561. doi:10.1016/j.ejphar.2015.07.045
16. Tang X, Chen XF, Wang NY, et al. SIRT2 Acts as a Cardioprotective Deacetylase in Pathological Cardiac Hypertrophy. *Circulation.* 2017;136(21):2051-2067. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028728
17. Wang CH, Wei YH. Roles of Mitochondrial Sirtuins in Mitochondrial Function, Redox Homeostasis, Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):5266. doi:10.3390/ijms21155266
18. LaPak KM, Burd CE. The molecular balancing act of p16(INK4a) in cancer and aging. *Mol Cancer Res.* 2014;12(2):167-183. doi:10.1158/1541-7786.MCR-13-0350
19. Wang Y, Zang X, Wang Y, Chen P. High expression of p16INK4a and low expression of Bmi1 are associated with endothelial cellular senescence in the human cornea. *Mol Vis.* 2012;18:803-815.
20. Cazzalini O, Scovassi AI, Savio M, Stivala LA, Prosperi E. Multiple roles of the cell cycle inhibitor p21(CDKN1A) in the DNA damage response. *Mutat Res.* 2010;704(1-3):12-20. doi:10.1016/j.mrrev.2010.01.009
21. Klimentova EA, Suchkov IA, Shchulkin AV, Glazkova AP, Kalinin RE. Expression of Apoptotic Markers Bcl-2 and Bax in the Vascular Wall. *Sovrem Tekhnologii Med.* 2021;13(2):46-50. doi:10.17691/stm2021.13.2.05

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Acknowledgments. The study did not have sponsorship.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Сведения об авторах

Кравченко Кирилл Павлович - научный сотрудник отдела клинической геронтологии АНО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо д. 3, e-mail: kirill.kravchenko.spb@yandex.ru, ORCID ID 0000-0001-8824-1543; SPIN-код: 8818-3535

Медведев Дмитрий Станиславович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией восстановительного лечения и реабилитации АНО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо д. 3, e-mail: mds@dsmmedvedev.ru, ORCID ID 0000-0001-7401-258X; SPIN-код: 7516-6069

Морозкина Светлана Николаевна - кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории системы доставки лекарственных препаратов ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр.2-4, e-mail: i_norik@mail.ru, ORCID ID 0000-0003-0122-0251; SPIN-код: 3215-0328

Троцюк Дина Витальевна - аспирант по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», 308015, Россия, Белгород, ул. Победы 85; старший преподаватель кафедры внутренних болезней им. проф. Б.И. Шулутко, ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», 195271, Россия, Санкт-Петербург, Кондратьевский пр., 72А, e-mail: dinatrotsyuk@yandex.ru, ORCID ID 0000-0002-0833-4385; SPIN-код: 7030-3164

Глеб Игоревич Гурко - доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отдела клинической геронтологии АНО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо д. 3, e-mail: ibg@gerontology.ru, ORCID ID 0000-0002-4021-1342; SPIN-код: 6602-1315

Рождественская Ольга Анатольевна - кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», 125371, Москва, Волоколамское шоссе, 91, e-mail: longtermcare.fmba@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7099-4341

Information about the authors

Kravchenko Kirill Pavlovich - researcher of the Department of clinical gerontology of the St. Petersburg Institute of bioregulation and gerontology, 197110, Russia, St. Petersburg, Dynamo ave., 3, e-mail: kirill.kravchenko.spb@yandex.ru, ORCID ID 0000-0001-8824-1543; SPIN-code: 8818-3535

Medvedev Dmitry Stanislavovich - MD, Professor, Head of the Laboratory of Restorative Treatment and Rehabilitation of St. Petersburg Institute of bioregulation and gerontology, 197110, Russia, St. Petersburg, Dynamo ave., 3, e-mail mds@dsmmedvedev.ru, ORCID ID 0000-0001-7401-258X; SPIN-code: 7516-6069

Morozkina Svetlana Nikolaevna - candidate of chemical sciences, leading researcher of the Laboratory of the drug delivery system of the St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Health of the Russian Federation, 191036, Russia, St. Petersburg, Ligovsky ave.2-4, e-mail: i_norik@mail.ru, ORCID ID 0000-0003-0122-0251; SPIN-code: 3215-0328

Trotskyuk Dina Vitalievna – postgraduate student in the specialty 3.1.31. Gerontology and geriatrics», Belgorod State National Research University, 308015, Russia, Belgorod, Pobedy str.85; senior lecturer of the Department of internal diseases named after prof. B.I. Shulutko, private educational institution of higher education "St. Petersburg Medical-Social Institute, 195271, Russia, St. Petersburg, Kondratievsky ave., 72A, e-mail: dinatrotskyuk@yandex.ru, ORCID ID 0000-0002-0833-4385; SPIN-code 7030-3164

Gurko Gleb Igorevich - MD, senior researcher of the Department of clinical gerontology of St. Petersburg Institute of bioregulation and gerontology;197110, Russia, St. Petersburg, Dynamo Ave. 3, e-mail: ibg@gerontology.ru, ORCID ID 0000-0002-4021-1342; SPIN-code: 6602-1315

Rozhdestvenskaya Ol'ga Anatol'evna - PhD in Medical sciences, associate professor of Department of Internal Diseases, Geriatrics and Anti-aging Medicine, Academy of Postgraduate Education of the Federal State Budgetary Institution "Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency", 125371, Russia, Moscow, Volokolamskoe highway, 91, e-mail: longtermcare.fmba@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7099-4341

Статья получена: 25.12. 2022 г.
Принята к публикации: 29.03.2023 г.