

УДК 616-076 : 616-053.89

ОСОБЕННОСТИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ СИНДРОМЕ СТАРЧЕСКОЙ АСТЕНИИ НА ФОНЕ ПОЛИМОРБИНОЙ ПАТОЛОГИИ

¹Матевосян С. И., ²Бурягина Н.В.

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

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), Белгород

В статье приведены результаты оригинального исследования провоспалительного цитокинового профиля при синдроме старческой астении на фоне полиморбидной патологии. Результаты анализа содержания TNF- α в ротовой жидкости показали, что достоверные различия видны у пациентов старше 65 с синдромом старческой астении на фоне полиморбидности, у которых уровень этого исследуемого показателя в ротовой жидкости достоверно выше в 1,8 и 1,6 раз ($p < 0,05$), чем у групп пациентов младше 65 лет и старше 65 лет без синдрома старческой астении, соответственно. Таким образом, было установлено, что уровень TNF- α существенно зависит от наличия синдрома старческой астении на фоне полиморбидности. Также, выявлено, что уровень IL-1 β существенно зависит от наличия синдрома старческой астении на фоне полиморбидности: уровень этого показателя в 2,2 раза выше, чем у группы пациентов младше 65 лет и в 1,9 раз выше, чем у группы пациентов старше 65 лет без синдрома старческой астении, и в меньшей степени зависит от возраста, где этот показатель достоверно выше, но всего лишь в 1,2 раза. Полученные изменения провоспалительного локального иммунного ответа в ротовой жидкости прямо указывают на отсутствие взаимосвязи между возрастом и уровнем изменений нейроиммуноэндокринной системы, что позволяет сделать вывод, что сам по себе возраст не является биологическим предиктором изменений иммунного ответа и цитокинов в ротовой жидкости.

Ключевые слова: старческая астения, полиморбидная патология, провоспалительный цитокиновый профиль, ротовая жидкость, пожилой возраст.

FEATURES OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE PROFILE AT FRAILTY SYNDROME ON THE BACKGROUND OF POLYMORBIDE PATHOLOGY

¹Matevosjan S. I., ²Burjagina N.V.

¹Autonomous nonprofit scientific organization of higher education research centre Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Belgorod State National Research University", Belgorod

This article presents results of an original study of the pro-inflammatory cytokine profile in frailty with a polymorbide pathology. The results of analysis content of TNF- α in the oral fluid showed that significant differences are seen in patients older than 65 with frailty (+) in the background polymorbidity. at which level of

this investigated parameter in the oral fluid is significantly higher in 1.8 and 1.6 times ($p < 0,05$) than in the groups of patients less than 65 years and over 65 years of frailty (-), respectively. Thus, it was found the level of TNF- α significantly depends on the presence of frailty in the background of polymorbidity. Also, it was revealed that the level of IL-1 β significantly depends on presence the syndrome of frailty against the background of polymorbidity: the level of this the index is 2.2 times higher than in the group of patients younger than 65 years and 1.9 times higher, than in a group of patients older than 65 with frailty (-), and is less dependent on age, where this figure is significantly higher, but only 1.2 times. Received changes in the pro-inflammatory local immune response in the oral fluid directly point to the lack of correlation between age and level of change neuroimmunoendocrine system, which allows us to conclude that in itself age is not a biological predictor of changes in the immune response and cytokines in the oral fluid.

Keywords: frailty, polymorbide pathology, pro-inflammatory cytokine profile, oral fluid, elderly people.

Введение.

Достаточно рано признаки старения начинают проявляться и на молекулярном уровне ротовой полости, что является надежным индикатором физиологического старения организма в целом [1,2,3,4]. Учитывая то, что метод диагностики и анализ молекулярных маркеров ротовой жидкости минимально инвазивен и высоко эффективен, изучение биохимических характеристик ротовой жидкости у людей старших возрастных групп представляет большой научный интерес [1, 5, 6, 7,8, 9].

Цель работы

Определить характеристики провоспалительного иммунного ответа в ротовой жидкости при синдроме старческой астении на фоне полиморбидной патологии.

Материал и методы.

В исследование было включено 305 человек разного возраста, которые были разделены на 3 группы: 105 человек в возрасте 45-65 лет без синдрома старческой астении и с отсутствием полиморбидности (средний возраст $54,6 \pm 4,2$ лет, мужчин – 46 человек, женщин – 59 человек), 104 человека старшего возраста 65-85 лет без синдрома старческой астении (СА (-) и с отсутствием полиморбидности (средний возраст $69,8 \pm 5,0$ лет, мужчин – 48 человек, женщин – 56 человек), 96 человек старшего возраста 65-85 лет с синдромом старческой астении (СА(+)) и полиморбидностью (средний возраст $70,2 \pm 5,1$ лет, мужчин – 42 человек, женщин – 54 человека).

Все пациенты в группе с синдромом старческой астении на фоне полиморбидности страдали ишемической болезнью сердца в виде стенокардии напряжения I-III функционального класса, хронической сердечной недостаточностью I-II функционального класса по классификации NYHA и сахарным диабетом 2 типа лёгкой или средней тяжести. Исследование проводилось на протяжении 6 лет с 2010 по 2016 года на базе Стоматологического отделения Городской поликлиники № 5 города Санкт-Петербурга.

Критерии включения: пациенты с санированной ротовой полостью.

Критерии исключения: острые заболевания ротовой полости, пациенты с ишемической болезнью сердца в виде стенокардии напряжения IV функционального класса, хронической сердечной недостаточностью III-IV функционального класса по классификации NYHA и сахарным диабетом 2 типа тяжелой степени, пациенты, имеющие обострение хронических заболеваний.

Ишемическую болезнь сердца диагностировали по критериям, изложенным в рекомендациях Всероссийского научного общества кардиологов (2010), сахарный диабет – по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения «Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia» (2006).

Уровень цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск на планшетном спектрофотометре Thermo Scientific Multiskan Go.

Статистическую обработку материала выполняли на персональном компьютере в статистических программных пакетах MicrosoftExcel, Statistica 8.0. При статистическом анализе материала выполняли расчет интенсивных и экстенсивных показателей средних величин, определяли достоверность различий средних и относительных величин по t-критерию Стьюдента. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Увеличение уровня TNF- α является одним из наиболее ярких признаков развивающегося иммунного воспаления. TNF- α - многофункциональный провоспалительный цитокин, образующийся в основном моноцитами и макрофагами, который влияет на липидный метаболизм, коагуляцию, устойчивость к инсулину, функционирование эндотелия, стимулирует продукцию IL-1, IL-6, IL-8, интерферона-гамма, активирует лейкоциты, является одним из важных факторов защиты от внутриклеточных паразитов и вирусов.

Результаты исследования содержания TNF- α в ротовой жидкости представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Содержание TNF- α и линейки провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости
(пг/мл)

Исследуемый показатель	Уровень сигнальных молекул в ротовой жидкости		
	Младше 65 лет (n=105)	Старше 65 лет СА (-) (n=104)	Старше 65 лет СА (+) на фоне полиморбидности (n=96)

TNF- α , пг/мл	20,0 \pm 2,0	22,3 \pm 2,1	35,2 \pm 2,7 ^{#,°}
IL-1 β , пг/мл	171,4 \pm 21,0	205,7 \pm 23,2*	382,5 \pm 31,6 ^{#,°}
IL-6, пг/мл	168,0 \pm 13,1	179,4 \pm 14,2	381,6 \pm 25,8 ^{#,°}
IL-8, пг/мл	152,0 \pm 12,1	169,8 \pm 12,9	217,1 \pm 14,1 ^{#,°}

* $p < 0,05$ разница показателей между группой младше 65 лет и группой старше 65 лет СА(-);

[#] $p < 0,05$ разница показателей между группой старше 65 лет СА(-) и группой старше 65 лет СА (+) на фоне полиморбидности;

[°] $p < 0,05$ разница показателей между группой младше 65 лет и группой старше 65 лет СА (+) на фоне полиморбидности.

Из данных Таблицы 1 видно, что уровень TNF- α в ротовой жидкости не имеет достоверных отличий у групп пациентов младше 65 лет, что составило 20,0 \pm 2,0 пг/мл, и старше 65 лет СА (-), что составило 22,3 \pm 2,1 пг/мл ($p > 0,05$). Однако достоверные различия видны у пациентов старше 65 с СА (+) на фоне полиморбидности, что составило 35,2 \pm 2,7 пг/мл, у которых уровень этого исследуемого показателя в ротовой жидкости достоверно выше в 1,8 и 1,6 раз ($p < 0,05$), чем у групп пациентов младше 65 лет и старше 65 лет СА (-), соответственно. Таким образом, нами установлено, что уровень TNF- α существенно зависит от наличия синдрома старческой астении на фоне полиморбидности.

Можно полагать, что концентрация TNF- α в ротовой жидкости, как одного из ключевых агентов иммунного воспаления, может служить дополнительным индикатором локального хронического воспалительного процесса.

Исследования последних лет фокусируются на роли цитокинов как медиаторов регенерации костной ткани. Одним из важнейших цитокинов этого плана является TNF- α , способный ремоделировать костную ткань. Наиболее вероятным механизмом задержки регенерации кости является стимуляция моноцитов в ходе воспалительного процесса, под влиянием которого они секретируют TNF- α , повышенное количество которого усиливает резорбцию костной ткани за счет активации остеокластов. Нами доказано, что ситуация значительно осложняется при наличии синдрома старческой астении на фоне полиморбидности, и не зависит от возраста.

По своей природе IL-1 β является провоспалительным цитокином, уровень экспрессии которого тесно связан с уровнем экспрессии других цитокинов в очаге воспаления. Экспериментально давно установлено, что одним из основных факторов, обеспечивающих пролиферацию культивируемых лимфоцитов, является IL-1 β , синтезируемый макрофагами.

Результаты исследования содержания IL-1 β в ротовой жидкости представлены в Таблице 1.

Из данных Таблицы 1 видно, что уровень IL-1 β в ротовой жидкости имеет достоверные отличия у групп пациентов младше 65 лет, что составило 171,4 \pm 21,0 пг/мл, и старше 65 лет СА (-), что составило 205,7 \pm 23,2 пг/мл ($p < 0,05$), что в 1,2 раза больше, чем у группы пациентов младше 65 лет. Это отличается от данных по изменению TNF- α , где достоверных отличий у данных групп пациентов обнаружено не было.

При дальнейшем изучении IL-1 β в ротовой жидкости достоверные различия видны у пациентов старше 65 с СА (+) на фоне полиморбидности, что составило 382,5 \pm 31,6 пг/мл, у которых уровень этого цитокина в ротовой жидкости достоверно выше ($p < 0,05$), чем у групп пациентов младше 65 лет и старше 65 лет СА (-). Таким образом, нами установлено, что уровень IL-1 β существенно зависит от наличия синдрома старческой астении на фоне полиморбидности: уровень этого показателя в 2,2 раза выше, чем у группы пациентов младше 65 лет и в 1,9 раз выше, чем у группы пациентов старше 65 лет с СА (-), и в меньшей степени зависит от возраста, где этот показатель достоверно выше, но всего лишь в 1,2 раза.

Таким образом, нами установлено, что уровень IL-1 β в ротовой жидкости можно рассматривать как дополнительный фактор, характеризующий патологический процесс при синдроме старческой астении на фоне полиморбидной патологии. Также можно предположить, что выявленная закономерность изменений данного цитокина у групп разного возраста без синдрома старческой астении связана с незначительными изменениями в системе экспрессии IL-1 β , возникающими с возрастом.

По своей природе IL-6 может действовать как провоспалительный, так и противовоспалительный цитокин. Данный интерлейкин синтезируется активированными макрофагами и Т-клетками и стимулирует иммунный ответ. IL-6 является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления. Нами достоверно установлено, что уровень IL-6 в ротовой жидкости является показательным для характеристики воспалительной иммунной реакции. Данные изменений этого показателя приведены также в Таблице 1.

Так, уровень IL-6 в ротовой жидкости отличается недостоверно у групп пациентов младше 65 лет, что составило 168,0 \pm 13,1 пг/мл, и старше 65 лет СА (-), что составило 179,4 \pm 14,2 пг/мл ($p > 0,05$). Достоверные различия изменений этого исследуемого цитокина были обнаружены у пациентов старше 65 с СА (+) на фоне полиморбидности, что составило 381,6 \pm 25,8 пг/мл, у которых уровень этого показателя в ротовой жидкости достоверно выше в 2,3 и 2,1 раз ($p < 0,05$), чем у групп пациентов младше 65 лет и старше 65 лет СА (-), соответственно.

Как видно, наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что уровень IL-6 в ротовой жидкости является наиболее показательным для характеристики воспалительной иммунной реакции.

Таким образом, нами установлено, что уровень IL-6 существенно зависит от наличия синдрома старческой астении на фоне полиморбидности. Характерно, что значимые различия в уровне IL-6 проявляются только при синдроме старческой астении на фоне полиморбидности и не зависят от возраста.

Как известно, IL-8 является одним из основных провоспалительных хемокинов, образуемый макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками. Он играет важную роль в системе врождённого иммунитета.

В ходе исследования концентрации IL-8 нами установлено, что выраженность провоспалительной реакции не является возраст-зависимой, так как достоверных различий по уровню IL-6 в ротовой жидкости между группами пациентов младше 65 лет, что составило $152,0 \pm 12,1$ пг/мл, и старше 65 лет СА (-), что составило $169,8 \pm 12,9$ пг/мл, обнаружено не было ($p > 0,05$). Достоверные различия изменений этого исследуемого цитокина были обнаружены у пациентов старше 65 с СА (+) на фоне полиморбидности, что составило $217,1 \pm 14,1$ пг/мл, у которых уровень этого показателя в ротовой жидкости достоверно выше в 1,4 и 1,3 раза ($p < 0,05$), чем у групп пациентов младше 65 лет и старше 65 лет СА (-), соответственно. Следовательно, наличие синдрома старческой астении на фоне полиморбидности приводит к росту этого показателя, что говорит об увеличении активности локального провоспалительного ответа.



Рисунок 1. Концентрация TNF-α и исследуемых провоспалительных цитокинов у пациентов разного возраста с наличием/ отсутствием синдрома старческой астении на фоне полиморбидности (пг/мл).

Таким образом, как видно из рисунка 1, можно сделать заключение, что на локальном уровне провоспалительная система проявляет очень высокий уровень активности только у пациентов с синдромом старческой астении на фоне полиморбидности, что, возможно, способствует прогрессированию патологического процесса.

Выводы.

1. Полученные изменения провоспалительного локального иммунного ответа в ротовой жидкости прямо указывают на отсутствие взаимосвязи между возрастом и уровнем изменений нейроиммуноэндокринной системы, что позволяет сделать вывод, что сам по себе возраст не является биологическим предиктором изменений иммунного ответа и цитокинов в ротовой жидкости.

2. Концентрация TNF-α в ротовой жидкости при синдроме старческой астении на фоне полиморбидности может служить интегральным показателем иммунного воспаления вне зависимости от возраста.

3. Уровень IL-1β в ротовой жидкости можно рассматривать как дополнительный фактор, характеризующий патологический процесс при синдроме старческой астении на фоне полиморбидной патологии. Уровень IL-6 в ротовой жидкости является показательным

для характеристики воспалительной иммунной реакции при синдроме старческой астении на фоне полиморбидности.

Список литературы

1. Данилевский Н.Ф., Леонтьев В.К., Несин А.Ф., Рахний Ж.И. Заболевания слизистой оболочки полости рта// *Стоматология*. - 2001. - С. 117.
2. Емельянов В.В., Мещанинов В.Н. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности крови у больных сахарным диабетом с различным темпом старения // *Госпитальный вестник*. - 2005. - № 1. - С. 5.
3. Кирдей Е.Г., Дмитриева Л.А., Рубашкина Э.В. Особенности иммуноцитокинового и аутоиммунного статуса при некоторых заболеваниях воспалительного характера// *Аллергология и иммунология*. 2000. Т. 1. № 2. С. 132.
4. Синдром старческой астении (frailty): клиника, диагностика, лечение, профилактика / А. Ильницкий, К. Прощаев, Л. Варавина [и др.] // *Врач*. – 2014. – № 6. – С. 3-5.
5. Яшин А.Я., Яшин Я.И., Черноусова Н.И., Серова Л.Д., Артемьева О.В., Рогачева Н.А. Природные антиоксиданты – надежная защита человека от болезней и старения// *Геронтология и гериатрия*. 2007. № 7. С. 70.
6. Anisimov V.N. Biological interactions of aging and carcinogenesis// *Cancer treatment and research*. - 2005. - V. 124. - P. 17-50.
7. Anisimov V.N. Premature ageing prevention: limitations and perspectives of pharmacological interventions// *Current Drug Targets*. - 2006. - V. 7. - № 11. - P. 1485-1503.
8. Anisimov V.N., Berstein L.M., Egormin P.A., Piskunova T.S., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Tyndyk M.L., Yurova M.V., Kovalenko I.G., Poroshina T.E., Semenchenko A.V. Metformin slows down aging and extends life span of female SHR mice// *Cell Cycle*. - 2008. - V. 7. - № 17. P. 2769-2773.
9. Masoro EJ, Austad SN. The evolution of the antiaging action of dietary restriction: a hypothesis. // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. - 1996 – P.387-391.

The list of references

1. Danilevskij N.F., Leont'ev V.K., Nesin A.F., Rahnij Zh.I. Zabolevanija slizistoj obolochki polosti rta// *Stomatologija*. - 2001. - P. 117.
2. Emel'janov V.V., Meshhaninov V.N. Pokazateli perekisnogo okislenija lipidov i antioksidantnoj aktivnosti krovi u bol'nyh saharnym diabetom s razlichnym tempom starenija // *Gospital'nyj vestnik*. - 2005. - № 1. - P. 5.

3. Kirdej E.G., Dmitrieva L.A., Rubashkina Je.V. Osobennosti immunocitokinovogo i autoimmunnogo statusa pri nekotoryh zabolevanijah vospalitel'nogo haraktera// Allergologija i immunologija. 2000. - V. 1. - № 2. - P. 132.
4. Sindrom starcheskoj astenii (frailty): klinika, diagnostika, lechenie, profilaktika / A. Il'nickij, K. Proshhaev, L. Varavina [i dr.] // Vrach. – 2014. – № 6. – P. 3-5.
5. Jashin A.Ja., Jashin Ja.I., Chernousova N.I., Serova L.D., Artem'eva O.V., Rogacheva N.A. Prirodnye antioksidanty – nadezhnaja zashhita cheloveka ot boleznej i starenija// Gerontologija i geriatrija. 2007. - № 7. - P. 70.
6. Anisimov V.N. Biological interactions of aging and carcinogenesis// Cancer treatment and research. - 2005. - V. 124. - P. 17-50.
7. Anisimov V.N. Premature ageing prevention: limitations and perspectives of pharmacological interventions// Current Drug Targets. - 2006. - V. 7. - № 11. - P. 1485-1503.
8. Anisimov V.N., Berstein L.M., Egormin P.A., Piskunova T.S., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Tyndyk M.L., Yurova M.V., Kovalenko I.G., Poroshina T.E., Semenchenko A.V. Metformin slows down aging and extends life span of female SHR mice// Cell Cycle. - 2008. - V. 7. - № 17. P. 2769-2773.
9. Masoro EJ, Austad SN. The evolution of the antiaging action of dietary restriction: a hypothesis. // J Gerontol A Biol Sci Med Sci. - 1996 – P.387-391.