

На правах рукописи

ПРАНОВИЧ

Александр Анатольевич

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ
УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА**

14.01.30 – геронтология и гериатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2019

Работа выполнена в лаборатории биogerонтологии Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Кветная Татьяна Викторовна

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Процаев Кирилл Иванович

Официальные оппоненты:

Белушкина Наталья Николаевна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», ведущий научный сотрудник Центра иммунологии и молекулярной биомедицины Биологического факультета

Павлова Татьяна Васильевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», заведующая кафедрой патологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «24» апреля 2019 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 521.103.01 при Автономной некоммерческой научной организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» по адресу: 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3).

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного Совета Д 521.103.01

доктор биологических наук

профессор



Людмила Семеновна Козина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В последние годы в связи с развитием профилактического направления в превентивной геронтологии уделяется повышенное внимание к поиску биологических маркеров и изучению механизмов патологического старения [Guleff D. Et al., 2014; McFound D., 2016]. При этом все больший интерес представляет развитие превентивных программ для мужчин [Лисицын Ю.П., 2009, 2012; Млинина О.Ю., 2011].

Среди наиболее значимых геронтологических проблем в заболеваемости лиц мужского пола является такое состояние как гиперактивный мочевой пузырь (ГАМП) [Лебедев В.В., Клименко Г.Я., 2012; Трифонова Н.Ю., Ласский И.А., 2013]. Появление ГАМП – большая проблема для лиц мужского пола, которая приводит к снижению социальной и ограничению физической активности с уменьшением продуктивности или полным отказом от работы, вынужденному ограничению сексуальных контактов, потере чувства собственного достоинства. ГАМП входит в группу так называемых «симптомов нижних мочевых путей» (СНМП), которые наблюдаются у 40% мужчин в возрасте старше 50 лет [Мазо Е.Б., Кривобородов Г.Г., 2003; Abrams P. et al., 2012].

Риск возникновения синдрома гиперактивного мочевого пузыря увеличивается с возрастом, причем критическим является возраст старше 60 лет, где распространенность ГАМП максимальная. Увеличение риска появления ГАМП для мужчин объясняется не только возрастной дизъюнкцией мышц, но также гиперплазией предстательной железы, признаки которой в той или иной степени имеются примерно у 50% мужчин в возрасте 60 лет [Белковская М.Н., 2004; Шарафутдинов М.А., 2004, 2009; Ласский И.А., 2012; Калининская А.А, Севрюков Ф.Ф., 2012].

Несомненной для развития ГАМП у пожилых пациентов является роль сопутствующих заболеваний с нейрогенным и сосудистым компонентом, таких как сахарный диабет, цереброваскулярная патология, атеросклероз крупных сосудов, и другие, которые могут вызывать или усугублять нарушения сократимости детрузора. Особое место занимает системный атеросклероз, диагностирующийся у 50-70% случаев пожилых людей с ГАМП. Согласно данным многих источников как ГАМП сам по себе, так и ГАМП в сочетании с системным атеросклерозом является патологией, характерной для мужчин старше 60 лет, и не является возрастной нормой и характеристикой нормального старения [Bauer S. et al. 2012]. Поэтому наличие этих состояний свидетельствует о патологическом старении уrogenитального тракта [Lawrence H., Young M.D., 2009].

При анализе литературы нами было найдено минимальное количество работ по изучению биологических маркеров старения

урогенитального тракта, которые могут использоваться для выявления процессов патологического и преждевременного старения этой системы. В литературе практически отсутствуют данные о закономерностях активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия мочевого пузыря у мужчин пожилого и старческого возраста, о возрастных особенностях экспрессии сигнальных молекул уротелия мочевого пузыря у мужчин при его гиперфункции, системном атеросклерозе и их сочетании. Изучение модели патологического старения уrogenитального тракта в виде развития ГАМП, являющегося клиническим аналогом гиперфункции уротелия, и системного атеросклероза представляется крайне актуальным в связи с высокой распространенностью данной сочетанной патологии.

Таким образом, в связи с вышеизложенным высокую практическую значимость представляет поиск биологических маркеров патологического старения, а также возможность обобщить и систематизировать биологические маркеры патологического старения уrogenитального тракта в рамках данного диссертационного исследования.

Цель исследования

Выявить биологические маркеры патологического старения уrogenитального тракта на модели гиперфункции уротелия при системном атеросклерозе.

Задачи исследования:

1. Выявить возрастные особенности уровня активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия мочевого пузыря у мужчин при физиологическом старении.
2. Определить закономерности активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия мочевого пузыря у мужчин пожилого и старческого возраста при гиперфункции уротелия, системном атеросклерозе и их сочетании.
3. Выявить возрастные особенности экспрессии сигнальных молекул уротелия мочевого пузыря у мужчин при физиологическом старении.
4. Изучить закономерности экспрессии сигнальных молекул уротелия мочевого пузыря у мужчин пожилого и старческого возраста при гиперфункции уротелия, системном атеросклерозе и их сочетании.
5. Определить сигнальные молекулы, которые могут служить маркерами патологического старения уrogenитального тракта.

Научная новизна

Впервые в настоящем исследовании выявлены возрастные особенности уровня активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия мочевого пузыря у мужчин при физиологическом старении, при гиперфункции уротелия, системном атеросклерозе и их сочетании. Доказано, что при физиологическом старении урогенитального тракта не происходит достоверного повышения уровня активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия, а при патологическом старении урогенитального тракта, характеризующемся гиперфункцией уротелия на фоне системного атеросклероза, наблюдается достоверное повышение активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия в 1,6-1,8 раза.

В рамках проведенного диссертационного исследования впервые показано, что при патологическом старении урогенитального тракта отмечается достоверное повышение экспрессии рецепторов ацетилхолина, глутамата, трансформирующего фактора роста бета-1 и снижение уровней серотонина и допамина.

Практическая значимость

В ходе диссертационного исследования выявлены особенности активации экспрессии ваниллоидных и пуринергических рецепторов, а также некоторых сигнальных молекул в уротелии при патологическом старении урогенитального тракта.

Впервые установлено, что биологическими маркерами патологического старения урогенитального тракта на модели сочетания гиперфункции уротелия и системного атеросклероза являются ваниллоидные и пуринергические рецепторы, рецепторы к ацетилхолину, глутамату, трансформирующему фактору роста бета (для которых зарегистрировано повышение экспрессии), а также рецепторы серотонина и допамина (экспрессия которых в уротелии снижается).

Основные положения, выносимые на защиту

1. При физиологическом старении урогенитального тракта не происходит достоверного повышения уровня активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия.
2. При патологическом старении урогенитального тракта у мужчин с сочетанием гиперфункции уротелия и системного атеросклероза происходит достоверное повышение активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия - в пожилом

возрасте (в 1,6 раза) и достигающего максимума в старческом возрасте (в 1,8 раза по сравнению с людьми среднего возраста).

3. При физиологическом старении уrogenитального тракта не происходит достоверного изменения экспрессии рецепторов к таким сигнальным молекулам уротелия, как ацетилхолин, глутамат и трансформирующий фактор роста бета-1.

4. Патологическое старение уrogenитального тракта характеризуется достоверным повышением экспрессии рецепторов ацетилхолина в клетках уротелия в 1,4 раза, глутамата в 1,6 раза, трансформирующего фактора роста бета-1 в 1,5 раза и снижением уровней рецепторов серотонина и допамина в 1,2 раза по сравнению с показателями у людей тех же возрастных групп с физиологическим старением.

5. Биологическими маркерами патологического старения уrogenитального тракта на модели сочетания гиперфункции уротелия и системного атеросклероза являются ваниллоидные и пуринергические рецепторы, рецепторы к ацетилхолину, глутамату, трансформирующему фактору роста бета (для которых зарегистрировано повышение экспрессии), а также рецепторы серотонина и допамина (экспрессия которых в уротелии снижается).

Связь с научно-исследовательской работой Института

Диссертационная работа является научной темой, выполняемой по основному плану НИР Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Апробация работы

Материалы выполненного диссертационного исследования доложены, обсуждены и одобрены на Международной научной конференции «Наука в современном обществе» (Ставрополь, 2014), Геронтологическом интернет-форуме имени В.Ф. Купревича (2015), научно-практической конференции «Промышленная медицина» (Новополюк, 2015), научно-практической конференции Белорусского республиканского геронтологического общественного объединения «Пожилой человек в современном мире» (Витебск, 2016), Common geriatric conference CZ-VY (Brno, 2017).

Результаты исследования используются в научно-педагогической деятельности ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства», биологической секции Белорусского республиканского геронтологического общественного

объединения, и в клинической работе «Международной клиники гемостаза» (город Москва).

Личный вклад автора

Автором диссертации самостоятельно поставлены цель и задачи проведенного исследования, был дан анализ отечественной и зарубежной литературы по изученной проблеме, разработаны методические подходы к проведению диссертационного исследования. Автор непосредственно произвел сбор данных, обработку и обобщение полученных материалов, подготовку основных публикаций по выполненной работе, написание и оформление рукописи. Личный вклад автора составляет 85%.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, 4 статьи в научных журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ, 2 статьи в других журналах, 5 тезисов докладов.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 101 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, программы и методики исследования, 3-х глав материалов собственного исследования, выводов, практических рекомендаций. Список литературы содержит 154 источника, в том числе 92 работы зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 8 рисунками и 7 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика людей, включенных в исследование. Все люди, включенные в исследование, были разделены на несколько групп в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения по классификации возраста [World Health Organization. The world health report 2003: shaping the future. Geneva: World Health Organization, 2003; equity [web site]. Geneva, World Health Organization, 2009, <http://www.who.int/healthsystems/topics/equity/en>, accessed 28 June 2009]. В исследование было включено 278 человек: 93 мужчины среднего возраста, 92 мужчины пожилого возраста и 93 мужчины старческого возраста, они были разделены на следующие группы:

а) три группы мужчин в возрасте $53,6 \pm 2,7$ года (средний возраст от 45 до 59 лет, $n=31$), $67,8 \pm 2,3$ года (пожилой возраст от 60 до 74 лет, $n=30$),

84,2±1,9 года (старческий возраст от 75 до 89 лет, n=32) – без признаков гиперактивного мочевого пузыря и системного атеросклероза;

б) три группы мужчин в возрасте 54,7±2,3 года (средний возраст от 45 до 59 лет, n=30), 66,4±2,5 года (пожилой возраст от 60 до 74 лет, n=31), 85,7±1,1 года (старческий возраст от 75 до 89 лет, n=30) – с признаками гиперактивного мочевого пузыря без системного атеросклероза;

в) три группы мужчин в возрасте 55,9±2,6 года (средний возраст от 45 до 59 лет, n=32), 68,2±2,2 года (пожилой возраст от 60 до 74 лет, n=31), 86,3±1,6 года (старческий возраст от 75 до 89 лет, n=31) – с сочетанием гиперактивного мочевого пузыря и системного атеросклероза.

Диагноз ГАМП был выставлен лечащими врачами в соответствии с рекомендациями Комитета по стандартизации терминологии Международного общества по удержанию мочи (ICS). Ведущей патологией у данной категории людей со стороны сердечно-сосудистой системы был системный атеросклероз (диагноз выставлен в соответствии с рекомендациями 42 сессии Всемирной организации здравоохранения - Всемирной ассамблеи здравоохранения, 42 сессия «Профилактика сердечно-сосудистых и других хронических неинфекционных болезней и борьба с ними» и Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем; 10-й пересмотр).

Дизайн исследования. Проведено поэтапное исследование. Общая схема исследования:

- гистологическое исследование биоптатов уротелия;
- изучение уровня активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов;
- изучение уровня экспрессии рецепторов уротелия к сигнальным молекулам (см. ниже).

Данные маркеры были выбраны для изучения как перспективные таргетные показатели по отношению к патологическим процессам в урогенитальном тракте [Oliver P., 2010; Clara J., 2012].

Гистологическое исследование биоптатов уротелия

После взятия биопсии биоптаты фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов. Далее образцы обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (70-95%), помещали в ксилол и заливали в жидкий парафин. Проводка осуществлялась с помощью станции Leica TP 1020, с последующим изготовлением парафиновых блоков на автоматической станции заливки Leica EG 1160. При помощи микротомы Rotary 3002 Pfm получали парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм.

Для гистологического исследования биоптатов уротелия нами были использованы следующие методы окраски клеток.

1. Водный раствор азур-эозина по Романовскому-Гимза в разведении 1:5 наносили на препарат биоптатов уротелия и выдерживали 20 мин при комнатной температуре. Затем препарат промывали и заключали под покровное стекло.

2. 1% раствор орсеина наносили на препарат биоптатов уротелия и выдерживали 20 мин при комнатной температуре (работа с орсеиновым синим проводилась в вытяжном шкафу, т.к. в состав этого красителя входит уксусная кислота). Затем препарат промывали и заключали под покровное стекло.

3. 1% водный раствор метиленового синего наносили на препарат биоптата уротелия и выдерживали 50 мин при комнатной температуре, промывали и заключали под покровное стекло.

4. 1% раствор орсеина наносили на стекло на 5 мин, затем промывали дистиллированной водой и наносили 0,1% спиртовой раствор водного зеленого, далее вновь промывали водой и заключали под покровное стекло.

Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике. Депарафинированные образцы биоптатов уротелия помещали на покрытые поли-L-лизинном предметные стекла (Sigma). Для иммуноцитохимического исследования использовались первичные и вторичные антитела - моноклональные мышиные анти-человеческие антитела к различным сигнальным молекулам. Применяли антитела фирмы «Dako» к рецепторам ваниллоидных и пуриновых рецепторов, а также к рецепторам следующих сигнальных молекул: - ацетилхолину; - TGF- β 1 (трансформирующий фактор роста бета – 1); - глутамату; - серотонину; - допамину (фирмы DLD, Германия).

Визуализацию иммуногистохимической реакции проводили с применением комплекса авидина с биотинилированной пероксидазой (ABC-kit), с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином (Novocastra).

Морфометрическое исследование

Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Nikon Eclipse E400, цифровой камеры Nikon DXM1200, персонального компьютера на базе Intel Pentium 4 и программного обеспечения Vidiotest Morphology 5.0». В каждом случае анализировали 5 полей зрения при увеличении 200.

Оптическую плотность экспрессии выявленных продуктов измеряли в условных единицах. Указанные параметры отражают интенсивность синтеза или накопления исследуемых сигнальных молекул.

Статистическая обработка материала

Статистическая обработка материалов исследования осуществлялась на персональном компьютере IBM PC (Intel Pentium-III), Windows Millennium с помощью программных средств и пакета Statistica for Windows Version 6.0 (StatSoftInc., США). Массив исходных данных был подготовлен так, что можно было сравнивать весь имеющийся набор сведений в анализируемых группах и подгруппах разного уровня. При соответствии нормальному закону распределения признака проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин проводили с использованием t-критерия Стьюдента с оценкой достоверности различий ($p < 0,05$) по значениям $M \pm m$. Для оценки достоверности различий независимых выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, для зависимых выборок данных использовали критерий Вилкоксона. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. При оценке связей качественных показателей применяли критерий достоверности связи Пирсона с поправкой Йетса, критерий Фишера.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биологические особенности активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия у мужчин разного возраста

При изучении биологических особенностей активации ваниллоидных рецепторов уротелия у мужчин разного возраста получены следующие результаты (таблица 1). Так, у мужчин без ГАМП и системного атеросклероза был выявлен уровень активации ваниллоидных рецепторов уротелия в $56,7 \pm 4,9\%$ у людей среднего возраста, в $61,9 \pm 4,8\%$ у людей пожилого возраста и в $63,5 \pm 5,3\%$ у людей старческого возраста (различия между возрастными группами недостоверны, $p > 0,05$). У мужчин при ГАМП без системного атеросклероза был выявлен уровень активации ваниллоидных рецепторов уротелия в $76,5 \pm 4,2\%$ у пациентов среднего возраста, в $91,4 \pm 7,5\%$ у пациентов пожилого возраста и в $117,8 \pm 6,8\%$ у пациентов старческого возраста (разность показателей достоверна внутри каждой пары возрастных групп, $p < 0,05$). Аналогичная по темпам возрастная динамика активации ваниллоидных рецепторов была выявлена при сочетании ГАМП и системного атеросклероза. Кроме того, во всех возрастных группах наблюдалось повышение активности ваниллоидных рецепторов с нарастанием тяжести патологии ($p < 0,05$), достигая

максимума у людей старческого возраста с сочетанием ГАМП и атеросклероза.

Таблица 1

Биологические особенности активации ваниллоидных рецепторов уротелия у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика	Уровень активации ваниллоидных рецепторов уротелия у пациентов разного возраста (%)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	56,7±4,9	61,9±4,8	63,5±5,3
При ГАМП без системного атеросклероза	76,5±4,2 ^o	91,4±7,5 ^{*,o}	117,8±6,8 ^{**,#,o}
Сочетание ГАМП и системного атеросклероза	120,4±9,7 ^{o,oo}	147,3±12,7 ^{*,o,oo}	164,3±10,4 ^{**,#,o,oo}

* $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

** $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

$p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^o $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo} $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Также нами были изучены биологические особенности активации пуринаргических рецепторов уротелия у мужчин разного возраста (таблица 2). У мужчин без ГАМП и системного атеросклероза был выявлен уровень активации пуринаргических рецепторов уротелия в 55,4±4,7% у людей среднего возраста, в 62,6±4,5% у людей пожилого возраста и в 63,4±5,2% у людей старческого возраста (различия между возрастными группами недостоверны, $p > 0,05$). У мужчин при ГАМП без системного атеросклероза был выявлен уровень активации пуринаргических рецепторов уротелия в 77,3±4,1% у пациентов среднего возраста, в 92,0±7,2% у пациентов пожилого возраста и в 116,5±6,4% у пациентов старческого возраста (разность показателей достоверна внутри каждой

пары возрастных групп, $p < 0,05$). Аналогичная по темпам возрастная динамика активации пуринергических рецепторов была выявлена при сочетании ГАМП и системного атеросклероза. Кроме того, во всех возрастных группах наблюдалось повышение активности пуринергических рецепторов с нарастанием тяжести патологии ($p < 0,05$), достигая максимума у людей старческого возраста с сочетанием ГАМП и атеросклероза.

Таблица 2

Биологические особенности активации пуринергических рецепторов уротелия у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика	Уровень активации пуринергических рецепторов уротелия у пациентов разного возраста (%)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	55,4 \pm 4,7	62,6 \pm 4,5	63,4 \pm 5,2
При ГАМП без системного атеросклероза	77,3 \pm 4,1 ^o	92,0 \pm 7,2 ^{*,o}	116,5 \pm 6,4 ^{**,#,o}
Сочетание ГАМП и гиперактивности и системного атеросклероза	121,3 \pm 9,5 ^{o,oo}	146,5 \pm 11,9 ^{*,o,oo}	169,9 \pm 11,0 ^{**,#,o,oo}

* $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

** $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

$p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^o $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo} $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Иммуногистохимическое изучение уровня экспрессии рецепторов уротелия к сигнальным молекулам у мужчин разного возраста

Следующим этапом нашего исследования было изучение уровня экспрессии рецепторов уротелия к следующим сигнальным молекулам уротелия у мужчин разного возраста: трансформирующего фактора роста

бета-1, ацетилхолина, глутамата, серотонина, допамина (уровни оптической площади экспрессии).

Данные по изучению биологических особенностей экспрессии рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1 в биоптатах уротелия у мужчин разного возраста представлены в таблице 3.

Таблица 3

Биологические особенности экспрессии рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1 у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика	Уровень экспрессии рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1 в биоптате у пациентов разного возраста (%)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	43,5±0,07	43,4±0,06	43,5±0,05
При ГАМП без системного атеросклероза	43,5±0,05	44,1±0,07 ^{*.o}	56,3±0,08 ^{**,#}
Сочетание ГАМП и гиперактивности и системного атеросклероза	45,2±0,09 ^{o,oo}	55,8±0,08 ^{*.o,oo}	66,7±0,09 ^{**,#,o,oo}

* $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

** $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

$p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^o $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo} $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Возрастные биологические особенности экспрессии рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1 в биоптатах клеток уротелия заключались в том, что у здоровых людей с увеличением возраста не наблюдались изменения экспрессии рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1 ($p > 0,05$). При ГАМП без системного атеросклероза и ГАМП с системным атеросклерозом

наблюдалось достоверное увеличение экспрессии рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1 как с увеличением возраста ($p < 0,05$), так и с нарастанием тяжести патологии ($p < 0,05$).

Данные по биологическим особенностям оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к ацетилхолину у мужчин разного возраста представлены в таблице 4.

Полученные данные свидетельствовали о том, что возрастные биологические особенности оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к ацетилхолину подчиняются тем же закономерностям, что и экспрессия рецепторов уротелия к трансформирующему фактору роста бета-1.

Таблица 4

Биологические особенности оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к ацетилхолину у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика	Оптическая плотность экспрессии рецепторов уротелия к ацетилхолину у пациентов разного возраста (у.е.)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	0,31±0,05	0,32±0,06	0,33±0,03
При ГАМП без системного атеросклероза	0,45±0,08 ^o	0,52±0,07 [*] _o	0,64±0,06 ^{**,#,o}
Сочетание ГАМП и гиперактивности и системного атеросклероза	0,52±0,07 ^o _{oo}	0,67±0,04 [*] _{o,oo}	0,82±0,08 ^{**,#,o,oo}

* $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

** $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

$p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^o $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo} $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Таким же закономерностям подчинялись биологические особенности экспрессии оптической площади экспрессии рецепторов уротелия к глутамату у мужчин разного возраста (таблица 5).

Таблица 5

Биологические особенности оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к глутамату у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика	Оптическая плотность экспрессии рецепторов уротелия к глутамату у пациентов разного возраста (у.е.)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	0,32±0,04	0,33±0,06	0,34±0,08
При ГАМП без системного атеросклероза	0,47±0,09 ^o	0,57±0,08 ^{*,o}	0,69±0,09 ^{**,#,o,oo}
Сочетание ГАМП и гиперактивности и системного атеросклероза	0,53±0,06 ^{o,oo}	0,69±0,05 ^{*,o,oo}	0,83±0,07 ^{**,#,o,oo}

* $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

** $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

$p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^o $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo} $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Следующим этапом нашего исследования было изучение оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к серотонину в клетках уротелия у мужчин разного возраста (таблица 6). Возрастные биологические особенности экспрессии рецепторов уротелия к серотонину заключались в том, что у здоровых людей с возрастом не наблюдались достоверные изменения оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к серотонину ($p > 0,05$). При ГАМП без системного атеросклероза отмечалось снижение экспрессии рецепторов уротелия к серотонину по сравнению с людьми без патологии ($p < 0,05$), однако возрастных отличий

выявлено не было ($p > 0,05$). А вот при сочетании ГАМП и системного атеросклероза аналогичное наблюдалось достоверное снижение экспрессии рецепторов уротелия к серотонину как с увеличением возраста ($p < 0,05$), так и с нарастанием тяжести патологии ($p < 0,05$).

Таблица 6

Биологические особенности оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к серотонину у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика	Оптическая плотность экспрессии серотонина (у.е.)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	0,56±0,07	0,55±0,04	0,54±0,05
При ГАМП без системного атеросклероза	0,50±0,04 ^o	0,46±0,04 *, ^o	0,44±0,07 ^o
Сочетание ГАМП и гиперактивности и системного атеросклероза	0,43±0,05 ^{oo}	0,40±0,04 o,oo	0,36±0,06 ^{**,#,o} ,oo

* $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

** $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

$p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^o $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo} $p < 0,05$, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Аналогичные закономерности выявлены и в отношении биологических особенностей оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к допамину у мужчин разного возраста (таблица 7).

Таким образом, нами было установлено, что физиологическое старение уrogenитального тракта характеризуется стабильными показателями уровней активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия, а также стабильными уровнями экспрессии

рецепторов к таким сигнальным молекулам уротелия, как ацетилхолин, глутамат и трансформирующий фактора роста бета-1.

В то же время, при патологическом старении урогенитального тракта, моделью которого является гиперактивность мочевого пузыря с системным атеросклерозом, происходило достоверное повышение активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия, увеличивающееся в пожилом возрасте в 1,6 раза и в старческом возрасте в 1,8 раза по сравнению с людьми тех же возрастных групп с физиологическим старением.

Таблица 7

Биологические особенности оптической плотности экспрессии рецепторов уротелия к допамину у мужчин разного возраста.

Нозологическая характеристика уротелия	Оптическая плотность экспрессии рецепторов уротелия к допамину (у.е.)		
	Средний возраст (n=93)	Пожилой возраст (n=92)	Старческий возраст (n=93)
Без ГАМП и системного атеросклероза	0,55±0,06	0,54±0,03	0,53±0,04
При ГАМП без системного атеросклероза	0,49±0,05 ^o	0,45±0,06*, ^o	0,43±0,06 ^o
Сочетание ГАМП и гиперактивности и системного атеросклероза	0,42±0,04 ^{o,oo}	0,39±0,03 ^{o,oo}	0,35±0,05 ^{*,#,o,o} _o

*p<0,05, разность показателей между группами пациентов пожилого и среднего возраста;

**p<0,05, разность показателей между группами пациентов старческого и пожилого возраста;

#p<0,05, разность показателей между группами пациентов старческого и среднего возраста;

^op<0,05, разность показателей между группами пациентов с ГАМП и без патологии;

^{oo}p<0,05, разность показателей между группами пациентов с ГАМП+атеросклероз и с ГАМП.

Кроме того, патологическое старение урогенитального тракта характеризовалось достоверным повышением экспрессии рецепторов к ацетилхолину в клетках уротелия в 1,4 раза, глутамату в 1,6 раза, трансформирующему фактору роста бета-1 в 1,5 раза и снижением

уровней экспрессии рецепторов к серотонину и допамину в 1,2 раза. Это позволило сделать заключение о том, что показатели повышения активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов, показатели повышения экспрессии рецепторов к ацетилхолину, глутамату, трансформирующему фактору роста бета-1 и снижение показателей экспрессии рецепторов к серотонину и допамину можно считать биологическими маркерами патологического старения уrogenитального тракта (рисунок 1).

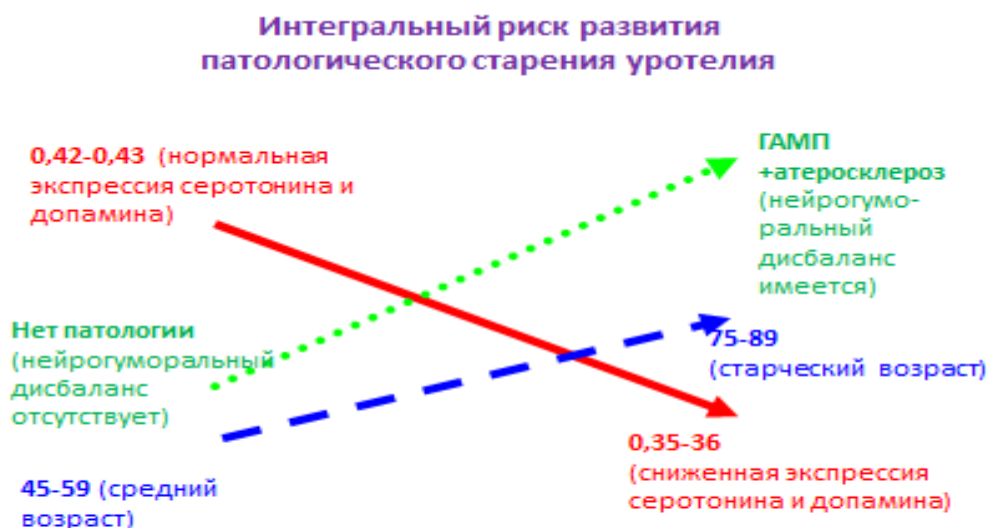


Рисунок. Интегральный риск патологического старения уrogenитального тракта.

ВЫВОДЫ

1. Уровень активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия в процессе нормального старения остается стабильным и сохраняется вне зависимости увеличения возраста на уровне 56,7-63,5% для ваниллоидных рецепторов и 55,4-63,4% для пуринергических рецепторов.

2. При патологическом старении уrogenитального тракта, характеризующегося гиперфункцией уротелия на фоне системного атеросклероза, происходит достоверное повышение активности ваниллоидных пуринергических рецепторов уротелия до 146,5% в пожилом возрасте и до 169,9% в старческом возрасте.

3. Физиологическое старение уrogenитального тракта характеризуется стабильными показателями экспрессии рецепторов к трансформирующему фактору роста бета-1 в биоптате клеток уротелия на среднем уровне 43,5%, а также отсутствием статистически значимых колебаний показателей оптической плотности экспрессии рецепторов к ацетилхолину, глутамату, серотонину и допамину в уротелии.

4. Патологическое старение уrogenитального тракта характеризуется достоверным повышением экспрессии рецепторов к ацетилхолину с 0,52 до 0,82 у.е., глутамату с 0,53 у.е. до 0,83 у.е., трансформирующему фактору роста бета-1 с 45,2 до 66,7 % и снижением уровней оптической площади экспрессии рецепторов к серотонину с 0,43 у.е. до 0,36 у.е. и допамину с 0,42 у.е. до 0,35 у.е.

5. Биологическими маркерами патологического старения уrogenитального тракта на модели сочетания гиперфункции уротелия и системного атеросклероза могут служить показатели активности ваниллоидных и пуринаргических рецепторов (снижение их активности свидетельствует о патологическом старении), показатели экспрессии рецепторов к ацетилхолину, глутамату, трансформирующему фактору роста бета – 1 (повышение их экспрессии свидетельствует о патологическом старении), показатели экспрессии рецепторов к серотонину и допамину (снижение их экспрессии свидетельствует о патологическом старении).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выявление активности ваниллоидных и пуринаргических рецепторов уротелия в качестве биологических маркеров для дифференциации процессов физиологического и патологического старения уrogenитального тракта может служить в качестве дополнительных критериев при формировании групп пациентов для проведения мероприятий по профилактике преждевременного старения.

2. Выявление при проведении биопсийных исследований повышения экспрессии рецепторов к ацетилхолину, глутамату, трансформирующему фактору роста бета-1 и снижение экспрессии рецепторов к серотонину и допамину может служить указанием на повышенный риск патологического старения у обследуемых мужчин.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

1. Закономерности активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия мочевого пузыря у мужчин пожилого и старческого возраста при гиперфункции уротелия, атеросклерозе и их сочетании // К.И. Прощаев, А.Н. Ильницкий, А.А. Пранович, Г.И. Гурко, А.Н. Селиванов // Клиническая практика. – 2018. – Том 9, № 2. – С.30-34.
2. Плейотропные эффекты метаболической терапии // Э.В. Сатардинова, О.Н. Белоусова, И.В. Шамараева, А.А. Пранович, Г.И. Гурко // Современные проблемы науки и образования. – 2017. - № 6 [электронное издание].
3. *Пранович, А.А.* Биомаркеры патологического старения уротелия / А.А. Пранович, Э.В. Сатардинова, К.И. Прощаев // Клиническая геронтология. – 2018. – № 3-4. –С.8-12.
4. Biological Markers of Pathological Aging in Diseases of Men / Kiryl I. Prashchayeu, Nina I. Zhernakova, Alexandr A. Pranovich, Andrey N. Ilnitkiy, Andrey A. Grishenko // Helix- 2018.- Vol. 8(1) - P. 2588-2592 (*Web of Science*).

Статьи в прочих журналах

5. *Пранович, А.А.* Биологические особенности активации ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия у мужчин разного возраста / А.А. Пранович, Т.В. Кветная, А.Н. Селиванов // электронный научный журнал «Геронтология». - 2016. - №4;
6. *Пранович, А.А.* Биологические предикторы старения мочеполовой системы / А.А. Пранович, К.И. Прощаев // Геронтология- 2018- Т. 6, № 1. – С. 1-13.

Тезисы докладов

7. *Пранович, А.А.* Распространенность заболеваний мочеполовой системы (по данным социологического исследования) / А.А. Пранович // V Международная научная конференция «Наука в современном обществе», Ставрополь, 2014. – С. 46-48.
8. *Пранович, А.А.* Физиологическое старение урогенитального тракта и уровни активности ваниллоидных и пуринергических рецепторов уротелия / А.А. Пранович // Геронтологический интернет-форум имени В.Ф. Купревича. – 2015. - С. 37.

9. *Пранович, А.А.* Биологические маркеры патологического старения уrogenитального тракта / А.А. Пранович // Промышленная медицина: матер. научно-практ. конф. – Новополоцк, 2015. – С. 27.

10 *Пирогов, О.Н.* Физиологическое старение уrogenитального тракта и уровни экспрессии трансформирующего фактора роста бета-1 / О.Н. Пирогов, А.А. Пранович // Пожилой человек в современном мире: мат. ежегодной научно-практ. конф. Белорусского республиканского геронтологического общественного объединения. – Витебск, 2016. – С. 17.

11. *Prashchayeu, K.* The level of vanilloid receptors activation in clinical model of pathological aging of urogenital tract / K. Prashchayeu, A. Pranovich // Common geriatric conference CZ-VY: abstracts. – Brno, 2017. - P. B08.

ПРАНОВИЧ Александр Анатольевич БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА // Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.01.30. – СПб., 2019. – 21 с.

Подписано в печать « ____ » _____ 2019. Формат 60Ч84 1/16.

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

Тираж 100 экз. Заказ ____ .

Отпечатано с готового оригинал-макета.

ЗАО «Принт-Экспресс»

197101, С.-Петербург, ул. Большая Монетная, 5 лит. А.