

АССОЦИАЦИЯ МЕЖДУ ДЛИНОЙ ТЕЛОМЕР И ГЕРИАТРИЧЕСКИМ СТАТУСОМ У ЛИЦ 95 ЛЕТ И СТАРШЕ

DOI: 10.37586/2949-4745-2-2023-102-107

УДК: 57.017.67

Ерусланова К.А.¹, Жикривицкая С.О.^{2,3}, Котовская Ю.В.¹, Ткачева О.Н.¹

¹ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Российский геронтологический научно-клинический центр, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, Москва, Россия

³ Публичное акционерное общество «Центр генетики и репродуктивной медицины «ГЕНЕТИКО», Москва, Россия

Резюме

Цель. Оценить взаимосвязь между длиной теломер и старческой астенией и отдельными гериатрическими синдромами.

Материалы и методы. Проанализирована база данных столетних граждан города Москвы. Для анализа использовались данные комплексной гериатрической оценки, в частности шкал «Возраст не помеха», индекса Бартел, индекса инструментальной активности, краткой шкалы оценки питания, краткой шкалы оценки когнитивных функций и гериатрической шкалы депрессии. Из замороженной крови была выделена ДНК, и выполнено исследование длины теломер. Проведено сравнение длины теломер в группах пациентов со старческой астенией и отдельными гериатрическими синдромами.

Результаты. В исследовании участвовали 60 человек ($98 \pm 1,8$ лет, 86,7% женщины). При анализе не было обнаружено различий в длине теломер у участников исследования с синдромом старческой астении или без него, а также при анализе отдельных гериатрических синдромов. Не было выявлено корреляции между длиной теломер и результатами шкал комплексной гериатрической оценки. Не было обнаружено различия в длине теломер у выживших и умерших в течение 3 лет наблюдения пациентов.

Заключение. Не было обнаружено взаимосвязи между длиной теломер и старческой астенией. Таким образом, длина теломер не может рассматриваться как надежный биомаркер функционального старения.

Ключевые слова: теломеры; долгожители; биомаркеры старения; старческая астения.

Для цитирования: Ерусланова К.А., Жикривицкая С.О., Котовская Ю.В., Ткачева О.Н. Ассоциация между длиной теломер и гериатрическим статусом у лиц 95 лет и старше. *Проблемы геронауки*. 2023; 2: 102–107. DOI: 10.37586/2949-4745-2-2023-102-107

ASSOCIATION BETWEEN TELOMERE LENGTH AND GERIATRIC STATUS IN CENTENARIANS

Eruslanova K.A.¹, Zhikrivetskaya S.O.^{2,3}, Kotovskaya Yu.V.¹, Tkacheva O.N.¹

¹ Russian Gerontology Research and Clinical Centre, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ The «GENETICO» Center of Genetics and Reproductive Medicine, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To evaluate the association between telomere length and frailty and individual geriatric syndromes in older adults

Materials and methods. The database of a hundred-year-old citizen of the city of Moscow was analyzed. The analysis was carried out using the data driven from the Comprehensive Geriatric Assessment (CGA), in particular, Age is not a Hindrance Scale, the Barthel index, Instrumental Activities of Daily Living (IADL), Mini Nutritional Assessment (MNA), Mini-Mental State Examination (MMSE), and Geriatric Depression Scale (GDS-15). DNA was isolated from frozen blood and a study of telomere length was performed. The comparison of telomere length in groups of patients with frailty and individual geriatric syndromes was carried out.

Results. The study involved 60 people (98 ± 1.8 years, 86.7% women). The analysis found no differences in telomere length in study participants with and without frailty, as well as in the analysis of individual geriatric syndromes. No correlation was found between telomere length and the results of comprehensive geriatric assessment scales. There was no difference in telomere length in patients who died within 3 years of follow-up and no.

Conclusion. No relationship was found between telomere length and frailty. Thus, telomere length cannot be considered as a reliable biomarker of functional aging.

Keywords: telomeres; centenarians; aging biomarkers; frailty.

For citation: Eruslanova K.A., Zhikrivetskaya S.O., Kotovskaya Yu.V., Tkacheva O.N. Association between Telomere Length and Geriatric Status in Centenarians. *Problems of Geroscience*. 2023; 2: 102–107. DOI: 10.37586/2949-4745-2-2023-102-107

ВВЕДЕНИЕ

Продолжительность жизни в России и мире практически удвоилась за последнее столетие. По расчетам Организации Объединенных Наций, к 2050 году в мире будет порядка 1,5 млрд человек в возрасте 60 лет и старше, что составит около трети населения земного шара [1]. Увеличение числа пожилых людей потребует решения таких задач, как улучшение качества и продуктивности жизни пожилых людей, увеличение продолжительности активной жизни,

уменьшение зависимости пожилых людей от посторонней помощи. Одним из путей решения проблемы может стать профилактика или раннее выявление и коррекция как старческой астении, так и отдельных гериатрических синдромов.

Считается, что увеличение частоты старческой астении является проявлением увеличения продолжительности жизни [2].

Старческая астения — это гериатрический синдром, характеризующийся возраст-ассоциированным снижением физиологического резерва и функций

многих систем организма, приводящий к повышенной уязвимости организма пожилого человека к воздействию эндо- и экзогенных факторов и высокому риску развития неблагоприятных исходов для здоровья, потери автономности и смерти [3,4]. Старческая астения является результатом сочетания возраст-ассоциированных изменений, происходящих в организме человека, с сопутствующими заболеваниями. Иногда старческую астению называют маркером биологического возраста на клиническом уровне [5].

Широко известным биомаркером на биологическом уровне считается длина теломер. Однако в последние годы этот маркер считается достаточно противоречивым. Теломеры — это повторяющаяся последовательность нуклеотидов, находящихся на конце хромосом и играющих важную роль в поддержании целостности хромосом. Укорочение теломер ассоциировано с риском развития ряда возраст-ассоциированных состояний и смерти [6,7,8]. Укорочение теломер происходит при каждом делении клетки, а также при инфекциях и оксидативном стрессе — двух процессах, которые лежат в основе механизмов старения и развития возраст-ассоциированных заболеваний [9].

В настоящее время из-за противоречивых результатов исследований нет однозначного понимания связи между длиной теломер и синдромом старческой астении у пожилых людей. Мета-анализ 2019 года продемонстрировал, что у людей со старческой астенией длина теломер более короткая, но ассоциация, несмотря на свою статистическую достоверность, слабая и клинически малозначимая. Кроме того, было обнаружено, что у людей разной расы ассоциация между длиной теломер и синдромом старческой астении сильно варьируется. Авторы работы делают выводы о том, что, возможно, длина теломер не является достоверным маркером старческой астении и требуются дополнительные исследования для понимания взаимосвязи между клиническими и биологическими маркерами старения [10].

В соответствии с вышесказанным был проведен анализ базы данных «Столетний гражданин города Москвы» для оценки наличия взаимосвязи между длиной теломер и гериатрическим статусом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Участниками исследования стали независимо проживающие жители города Москва в возрасте 95 лет и старше. Через социальные центры Москвы долгожители и/или их родственники получили информационное письмо о проводимом исследовании. При получении согласия на участие в исследовании к долгожителю выезжали сотрудники Российского геронтологического научно-клинического центра (врач гериатр и медицинская сестра). В присутствии социального работника и/или родственника пожилого человека подписывалось информированное согласие на участие в исследовании. Критерием включения было достижение возраста 95 лет и старше. Критерием невключения — отказ от участия в исследовании.

Во время первого этапа пациентам выполнялась комплексная гериатрическая оценка с использованием шкалы Бартел, индекса инструментальной активности (IADL), гериатрической шкалы оценки депрессии (GDS-15), краткой шкалы оценки питания (MNA), краткой шкалы оценки когнитивных функций (MMSE). Старческая астения диагностировалась на основании результатов опросника «Возраст не помеха» при получении 5 и более баллов [3,4].

На втором этапе у пациентов проводился забор крови, в том числе с целью заморозки для проведения лабораторных тестов, включая определение длины теломер.

Время наблюдения за участниками исследования составило 36 месяцев, данные о статусе жизни были получены через социальные центры Москвы.

Длину теломер определяли по методике Cawthon [23, 24, 25]. В качестве детектора использовали PowerUp SYBR green Master Mix (Applied Biosystems). Количественную оценку ПЦР проводили в системе быстрой ПЦР в реальном времени StepOnePlus (ThermoFisher Scientific).

Последовательности праймеров:

Тел1

GGT TTTT T GAG GGT GAG GGT GAG GGT GAG GGT G A G G G T

Тел2

36B4u CAAGTGGGAAGGTGTAATCC

36B4d CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA

В каждую лунку для образца добавляли 16 мкл мастер-микса и добавляли 4 мкл анализируемой геномной ДНК с концентрацией 10 нг/мкл. Для теломерной полимеразной цепной реакции (ПЦР) образцы нагревали при 95°C в течение 5 минут и проводили 35 циклов при 95°C в течение 20 секунд, 54°C в течение 2 минут с последующим плавлением. Для контроля ПЦР также проводился нагрев контрольных образцов до 95°C в течение 5 минут. Затем сделали 35 циклов 95°C по 20 секунд, 58°C по 1 минуте с последующим плавлением. Амплификация соответствующих теломерных и контрольных смесей занимает одну клеточную единицу. Для каждого образца проводили три повторяющиеся теломерные реакции и три контрольные реакции. В каждый 96-луночный планшет также помещали контрольные образцы без матрицы и реплики эталонных образцов ДНК (объединенные геномные ДНК, созданные в лаборатории).

Программное обеспечение StepOnePlus использовалось для получения значений Ct. Концентрация (нг/мкл) была интерполирована из экспоненциальной регрессии стандартной кривой для конкретного планшета [среднее значение Ct и log2 (концентрация)]. Любые образцы с концентрациями 36B4, выпадающими за пределы диапазона стандартной кривой, исключаются из дальнейшего анализа, поскольку отношение T/S не может быть точно рассчитано. Концентрацию теломер (T) делили на концентрацию 36B4 (S) для получения исходного отношения T/S.

Результаты для непрерывных переменных выражаются как среднее $\pm$ стандартное отклонение, а для дихотомических или категориальных переменных — в процентах. Различия между группами оценивались с использованием t-теста и критерия хи-квадрат Пирсона для непрерывных и категориальных значений соответственно. Для оценки связи между длиной теломер и результатами шкал комплексной гериатрической оценки использовался корреляционный анализ Spearman. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми. Анализы выполнялись с помощью Prism 9 для macOS (версия 9.5.1 (528)).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование были включены 60 долгожителей, 40 — с синдромом старческой астении и 20 без него. Средний возраст участников исследования составил $98 \pm 1,8$ года, 86,7% были женщины. Длина теломер была сопоставима в группе пациентов со старческой астенией и без нее. Основные данные о частоте основных гериатрических синдромов представлены в таблице 1.

Не было обнаружено значимого различия в длине теломер у пациентов с и без зависимости в повседневной жизни, депрессией и без нее, мальнотрицией или риском мальнотриции (рисунок 1). С учетом высокой частоты встречаемости снижения инструментальной активности и снижения когнитивных функций сравнительный анализ по этим параметрам не проводился.

Длина теломер достоверно не различалась в группе умерших в течение 36 месяцев и выживших ($0,74 \pm 0,31$ и $0,70 \pm 0,25$ соответственно, $p > 0,05$).

При проведении корреляционного анализа не было обнаружено взаимосвязи между длиной теломер и результатами комплексной гериатрической оценки. Результаты представлены в таблице 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования не продемонстрировали различия в длине теломер у лиц 95 лет и старше со старческой астенией или без нее, а также при отдельных гериатрических синдромах. Кроме того, не было обнаружено различия у умерших и выживших в течение трех лет.

Таблица 1.

Характеристика участников исследования

Характеристика	Все (60)	Без синдрома старческой астении (40)	С синдромом старческой астении (20)	Значение p
Возраст, лет	$98 \pm 1,8$	$98 \pm 2,1$	$98 \pm 1,3$	$> 0,05$
Мужской пол, n (%)	8 (13,3%)	6 (15%)	2 (10%)	$> 0,05$
Длина теломер	$0,71 \pm 0,29$	$0,73 \pm 0,28$	$0,66 \pm 0,3$	$> 0,05$
Зависимость в повседневной жизни, n (%)	50 (83,3%)	30 (75%)	20 (100%)	$< 0,05$
Снижение инструментальной активности, n (%)	58 (96,7%)	38 (95%)	20 (100%)	$> 0,05$
Депрессия, n (%)	41 (68,3%)	27 (67,5%)	14 (70%)	$> 0,05$
Снижение когнитивных функций, n (%)	53 (88,3%)	35 (87,5%)	(90%)	$> 0,05$
Риск мальнотриции и мальнотриция, n (%)	41 (68,3%)	25 (62,5%)	16 (80%)	$> 0,05$

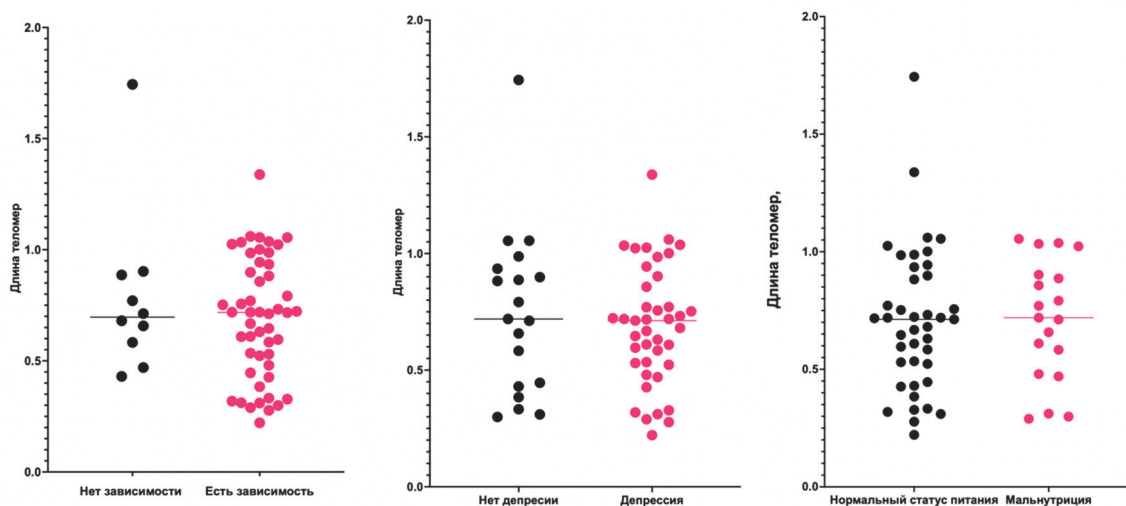


Рисунок 1. Сравнение длины теломер у долгожителей с или без зависимости в повседневной жизни (А), депрессией и без нее (Б), риском мальнотриции и мальнотрицией (В)

Таблица 2.

Результаты корреляционного анализа Spearmana между длиной теломер и результатами шкал комплексной гериатрической оценки

Ассоциация длины теломер с:	r	95% ДИ	Значение p
Индексом Бартел	0,22	-0,44 to 0,072	> 0,05
Индексом инструментальной активности	0,05	-0,22 to 0,31	> 0,05
Гериатрической шкалой депрессии	-0,20	-0,44 to 0,072	> 0,05
Краткой шкалой оценки питания	0,05	-0,22 to 0,31	> 0,05
Краткой шкалой оценки когнитивных функций	0,19	-0,14 to 0,48	> 0,05

Длина теломер широко используется в качестве биомаркера старения [7]. Неоднократно в исследованиях было показано, что скорость укорочения теломер связана с уменьшением продолжительности жизни и увеличением частоты возрастных заболеваний у людей [12,13], взаимосвязь между длиной теломер и смертностью противоречива и зависит от таких факторов, как этническая принадлежность, пол и тип заболевания [14,15,16].

Старческая астения представляет собой многофакторный синдром, связанный со снижением функциональной способности и повышенной уязвимостью к незначительным внешним стрессорам, а также с повышенным риском неблагоприятных исходов [3,4]. Старческая астения рассматривается как биомаркер биологического старения [6], что предполагает возможную связь между старческой астенией и длиной теломер.

В отдельных исследованиях демонстрировали взаимосвязь между длиной теломер и гериатрическими синдромами. Так, в китайском исследовании было показано, что длина теломер прямо пропорциональна результатам динамометрии [17]. В то же время испанское исследование не обнаружило связи между длиной теломер и старческой астенией [18].

Кроме того, в нашей работе не было продемонстрировано различие в длине теломер у умерших и выживших пациентов во время трехлетнего наблюдения. Несмотря на то что в исследованиях неоднократно демонстрировалось, что короткие теломеры связаны с повышенным риском смерти от всех причин в общей популяции [19], величина этой связи, по видимому, уменьшается с возрастом [20]. Было показано, что у лиц старше 80 лет связь утрачивается [21].

В то же время роль старческой астении как маркера негативного прогноза на выживаемость является неоспоримой [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В группе долгожителей не было обнаружено взаимосвязи между биомаркером старения — длиной теломер и клиническим маркером старения — старческой астенией. Таким образом, длина теломер не может рассматриваться как надежный биомаркер функционального возраста. Необходимы дополнительные

исследования для понимания взаимосвязи биомаркеров и функционального статуса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. United Nations. World population ageing (2019). <https://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/ageing/WorldPopulationAgeing2019-Highlights.pdf>.
2. Dzau VJ, Inouye SK, Rowe JW, Finkelman E, Yamada T. Enabling healthful aging for all — the National Academy of Medicine Grand Challenge in Healthy Longevity. *N Engl J Med*. 2019;381:1699–1701. — DOI: 10.1056/NEJMp1912298
3. Ткачева О.Н., Котовская Ю.В., Рунихина Н.К., Фролова Е.В., Наумов А.В., Воробьева Н.М., Остапенко В.С., Мхитарян Э.А., Шарашкина Н.В., Тюхменев Е.А., Переверзев А.П., Дудинская Е.Н. Клинические рекомендации «Старческая астения». Российский журнал гериатрической медицины. 2020;(1):11–46
4. Ткачева О.Н., Котовская Ю.В., Рунихина Н.К., Фролова Е.В., Наумов А.В., Воробьева Н.М., Остапенко В.С., Мхитарян Э.А., Шарашкина Н.В., Тюхменев Е.А., Переверзев А.П., Дудинская Е.Н. Клинические рекомендации «Старческая астения». Часть 2. Российский журнал гериатрической медицины. 2020;(2):115–130. — DOI: 10.37586/2686-8636-2-2020-115-130
5. Lorenzi M, Bonassi S, Lorenzi T, Giovannini S, Bernabei R, Onder G. A review of telomere length in sarcopenia and frailty. *Biogerontology*. 2018;19:209–221. — DOI: 10.1007/s10522-018-9749-5
6. Fasching CL. Telomere length measurement as a clinical biomarker of aging and disease. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55:443–465. — DOI: 10.1080/10408363.2018.1504274
7. Rossiello F, Jurk D, Passos J.F, et al. Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nat Cell Biol* 24, 135–147 (2022). — DOI: 10.1038/s41556-022-00842-x
8. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*. 2003;361:393–395. — DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12384-7
9. El Assar M, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Frailty as a phenotypic manifestation of underlying oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2020;149:72–77. — DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.011
10. Araújo Carvalho AC, Tavares Mendes ML, da Silva Reis MC, Santos VS, Tanajura DM, Martins-Filho PRS. Telomere length and frailty in older adults—A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2019;54:100914. — DOI:10.1016/j.arr.2019.100914
11. Шарашкина Н.В., Ткачева О.Н., Рунихина Н.К., Арефьева М.С., Ерусланова К.А., Остапенко В.С., Котовская Ю.В. Комплексная гериатрическая оценка — основной инструмент работы врача-гериатра. Российский журнал гериатрической медицины. 2022;(4):210–227. — DOI: 10.37586/2686-8636-4-2022-210-227
12. Muezzinler A, Zaineddin AK, Brenner H.A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev*. 2013;12:509–519. — DOI: 10.1016/j.arr.2013.01.003
13. Blackburn EH, Epel ES, Lin J. Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risk, and protection. *Science*. 2015;350:1193–1198. — DOI: 10.1126/science.aab3389

14. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*. 2003;361:393–395. — DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12384-7
15. Svensson J, Karlsson MK, Ljunggren O, Tivesten A, Mellstrom D, Moverare-Skrtic S. Leukocyte telomere length is not associated with mortality in older men. *Exp Gerontol*. 2014;57:6–12. — DOI: 10.1016/j.exger.2014.04.013
16. Needham BL, Rehkopf D, Adler N, Gregorich S, Lin J, Blackburn EH, Epel ES. Leukocyte telomere length and mortality in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2002. *Epidemiology*. 2015;26:528–535. — DOI: 10.1097/EDE.0000000000000299
17. Woo J, Yu R, Tang N, Leung J. Telomere length is associated with decline in grip strength in older persons aged 65 years and over. *Age (Dordr)* 2014;36:9711. — DOI: 10.1007/s11357-014-9711-7
18. El Assar M, Angulo J, Carnicero JA, et al. Association between telomere length, frailty and death in older adults. *Geroscience*. 2021;43(2):1015–1027. — DOI:10.1007/s11357-020-00291-0
19. Wang Q, Zhan Y, Pedersen NL, Fang F, Hagg S. Telomere length and all-cause mortality: a meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2018;48:11–20. — DOI: 10.1016/j.arr.2018.09.002
20. Zhan Y, Liu XR, Reynolds CA, Pedersen NL, Hagg S, Clements MS. Leukocyte telomere length and all-cause mortality: a between-within twin study with time-dependent effects using generalized survival models. *Am J Epidemiol*. 2018;187:2186–2191. — DOI: 10.1093/aje/kwy128
21. Martin-Ruiz CM, Gussekloo J, van Heemst D, von Zglinicki T, Westendorp RG. Telomere length in white blood cells is not associated with morbidity or mortality in the oldest old: a population-based study. *Aging Cell*. 2005;4:287–290. — DOI: 10.1111/j.1474-9726.2005.00171.x
22. Rodríguez-Mañas L, Féart C, Mann G, Viña J, Chatterji S, Chodzko-Zajko W, Gonzalez-Colaço Harmand M, Bergman H, Carcaillon L, Nicholson C, Scuteri A, Sinclair A, Pelaez M, van der Cammen T, Beland F, Bickenbach J, Delamarche P, Ferrucci L, Fried LP, Gutiérrez-Robledo LM, Rockwood K, Rodríguez Artalejo F, Serviddio G, Vega E, FOD-CC group (Appendix 1) Searching for an operational definition of frailty: a Delphi method based consensus statement: the frailty operative definition-consensus conference project. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013;68:62–67. — DOI: 10.1093/gerona/gls119
23. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002 May 15;30(10):e47.
24. Strazhesko I, Tkacheva O, Boytsov S, et al. Association of Insulin Resistance, Arterial Stiffness and Telomere Length in Adults Free of Cardiovascular Diseases. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136676.
25. Dagnall CL, Hicks B, Teshome K, Hutchinson AA, Gadalla SM, Khincha PP, Yeager M, Savage SA. Effect of pre-analytic variables on the reproducibility of qPCR relative telomere length measurement. *PLoS One*. 2017 Sep 8;12(9):e0184098.