

ПОИСК ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ БИОМАРКЕРАМИ НАКОПЛЕНИЯ СЕНЕСЦЕНТНЫХ КЛЕТОК В РАЗНЫХ ТКАНЯХ У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

Сорокина А.Г., Григорьева О.А., Басалова Н.А., Александрушкина Н.А.,
Новоселецкая Е.С., Кириллова К.И., Данилова Н.В., Орлова Я.А., Ефименко А.Ю.

Медицинский научно-образовательный центр МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Актуальность. Понимание биологических механизмов процессов старения необходимо для предупреждения и замедления развития возраст-ассоциированных заболеваний. Одной из ведущих причин старения организма считается накопление в различных тканях так называемых сенесцентных, или стареющих, клеток (СК). Клеточное старение является необходимым для обновления тканей и их регенерации, но избыточное накопление СК приводит к активации хронического асептического воспаления, дисфункции тканей и развитию возраст-ассоциированных заболеваний. В настоящее время активно разрабатываются подходы к селективной элиминации СК, контролю их активности и реверсии сенесцентного состояния.

Для оценки вклада СК в развитие старения и патогенез различных заболеваний необходимы релевантные и надежные биомаркеры таких клеток. В качестве биомаркера часто используется экспрессия ингибиторов клеточного цикла (например, p16/INK4a), поскольку остановка пролиферации является одним из основных атрибутивных признаков СК. Однако оценка этого маркера затруднена в клинической практике. Обычно в качестве маркеров возраст-ассоциированных заболеваний определяют жесткость сосудистой стенки, некоторые гемодинамические и биохимические параметры, а также содержание отдельных цитокинов и факторов роста в крови. В данной работе мы поставили цель изучить наличие взаимосвязи между установленными клиническими системными биомаркерами старения и развития возраст-ассоциированных заболеваний и биомаркерами СК на тканевом и клеточном уровнях.

Цель исследования. Установить наличие взаимосвязей между различными биомаркерами накопления СК на клеточном, тканевом и системном уровнях.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 38 пациентов в возрасте от 65 до 85 лет. У всех пациентов проводили оценку традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, жесткости артериальной стенки, а также получали биоматериалы (периферическая кровь, кожа, подкожная жировая клетчатка), из которых затем выделяли различные типы клеток (мононуклеарные клетки крови (МНК), фибробласты (ФБ) и мезенхимные стромальные клетки (МСК), а также проводили гистологический анализ биоптатов с целью оценки различных маркеров СК.

Результаты. В полученных образцах биоматериала определены различные показатели накопления сенесцентных клеток, проведен анализ связей между жесткостью сосудистой стенки, традиционными факторами риска

ССЗ, биомаркерами воспаления и накопления сенесцентных клеток в тканях и клеточных популяциях. С помощью корреляционного анализа подтверждена сильная значимая связь ключевого биомаркера СК — уровня экспрессии p16 в тканях — с возрастом ($r = 0,6$, $p < 0,001$), что соответствует литературным данным [2]. На организменном уровне выявлена его связь со скоростью пульсовой волны ($r = 0,394$, $p = 0,015$), в системном кровотоке — с уровнем VCAM-1 ($r = 0,312$, $p = 0,006$) и с уровнем мРНК p16 в МНК ($r = 0,380$, $p = 0,046$). Статистически значимые корреляции были выявлены с показателями пролиферации ФБ и МСК в культуре и приобретением клетками секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP): так, уровень p16 значимо коррелировал с уровнем IL-6 (сильная связь) и MCP-1 (слабая связь) в секретоме клеток. Результаты многофакторного линейного регрессионного анализа подтвердили, что независимо от возраста с экспрессией p16 связаны показатели пролиферации выделенных клеток и IL-6 в составе SASP. С помощью компьютерного моделирования после нормирования признаков определена формула, которая позволяет предсказывать уровень экспрессии p16 в тканях, опираясь только на неинвазивно определяемые показатели.

Выводы. Таким образом, продемонстрирована ассоциация между клиническими показателями, отражающими сосудистое старение, и биомаркерами накопления СК в тканях и клетках, выделенных из этих тканей в культуру. Также установлены возможности малоинвазивного определения показателей накопления сенесцентных клеток у пациентов старше 65 лет, что открывает новые возможности для контроля эффективности сенолитической терапии.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Ключевые слова: биомаркеры; сенесцентность; старение, возраст-ассоциированные заболевания; ССЗ.

Для цитирования: Сорокина А.Г., Григорьева О.А., Басалова Н.А., Александровская Н.А., Новоселецкая Е.С., Кириллова К.И., Данилова Н.В., Орлова Я.А., Ефименко А.Ю. Поиск взаимосвязей между биомаркерами накопления сенесцентных клеток в разных тканях у пациентов пожилого и старческого возраста. *Проблемы геронтологии*. 2023; 4: 261–264.

SEARCHING FOR ASSOCIATIONS BETWEEN BIOMARKERS OF SENESCENT CELLS ACCUMULATION IN DIFFERENT TISSUES IN OLDER AND OLDEST-OLD PATIENTS

Sorokina A.G., Grigorieva O.A., Basalova N.A., Aleksandrushkina N.A., Novoseletskaia E.S., Kirillova K.I., Danilova N.V., Orlova Y.A., Efimenko A.YU.

Medical Research and Educational Center of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Relevance. Understanding the biological mechanisms of aging is necessary to prevent and slow down the development of age-associated diseases. One of the leading causes of aging considered to be the accumulation of so-called senescent, or aging, cells (SC). Cellular aging is necessary for tissue renewal and regeneration, but excessive accumulation of SC leads to the activation of chronic aseptic inflammation, tissue dysfunction and development of age-associated diseases. Currently, approaches to selective elimination of SCs, as well as control of their activity and reversion of the senescent state are being actively developed. The assessment of stem cell involvement in aging and disease development requires the use of dependable and relevant biomarkers. A commonly used biomarker to indicate a cessation in cell growth is the expression of cell cycle inhibitors (for example, p16/INK4a) since the arrest of proliferation is one of the main attributable features of SC. However, evaluation of this marker is difficult in clinical practice. Typically, the stiffness of the vascular wall, some hemodynamic and biochemical parameters, as well as the content of certain cytokines and growth factors in the blood are determined as markers of age-associated diseases. In this work, we aimed to study the relationship between established clinical systemic biomarkers of aging and development of age-associated diseases and biomarkers of KS at the tissue and cellular levels.

The aim of the study is to establish the associations between various biomarkers of SC accumulation at the cellular, tissue and system levels.

Materials and methods. Study included 38 patients aged 65 to 85 years. In all patients, traditional risk factors for cardiovascular diseases, arterial wall stiffness were assessed, and samples were obtained (peripheral blood, skin, subcutaneous fat), from which various types of cells were then isolated (mononuclear blood cells (MBC), fibroblasts (FB) and mesenchymal stromal cells (MSCs), and also histological analysis of biopsy specimens to evaluate various MC markers was performed.

Results. In the obtained samples, various indicators of the accumulation of senescent cells were determined, and the relationships between the rigidity of the vascular wall, traditional risk factors for CVD, biomarkers of inflammation and the accumulation of senescent cells in tissues and cell populations were analyzed. Using correlation analysis, a strong significant association was confirmed between the key biomarker of KS — the level of p16 expression in tissues — and age ($r = 0.6$, $p < 0.001$), which corresponds to literature data [2]. At the organismal level, its relationship with the pulse wave velocity ($r = 0.394$, $p = 0.015$), in the systemic circulation — with the level of VCAM-1 ($r = 0.312$, $p = 0.006$) and with the level of p16 mRNA in the MNC ($r = 0.380$, $p = 0.046$). Statistically significant correlations were identified with the proliferation rates of PB and MSCs in culture and the acquisition of the aging-associated secretory phenotype (SASP) by cells: thus, level of p16 significantly correlated with the level of IL-6 (strong relationship) and MCP-1 (weak relationship) in cell secretome. The results of multivariate linear regression analysis confirmed that, regardless of age, p16 expression is associated with the proliferation of isolated cells and IL-6 in SASP. Using computer modeling, after normalizing the characteristics, a formula was determined that allows one to predict the level of p16 expression in tissues, relying only on non-invasively determined indicators.

Conclusion. Thus, the association between clinical parameters reflecting vascular aging and biomarkers of SC accumulation in tissues and in cells isolated from these tissues into culture has been demonstrated. The possibilities of minimally invasive determination of indicators of accumulation of senescent cells in patients over 65 years of age have also been determined, which opens up new opportunities for monitoring the effectiveness of senolytic therapy.

The study was carried out within the framework of the state assignment of the Moscow State University named after M.V. Lomonosov.

Keywords: biomarkers; senescence; aging; age-related diseases; CVD.

For citation: Sorokina A.G., Grigorieva O.A., Basalova N.A., Aleksandrushkina N.A., Novoseletskaya E.S., Kirillova K.I., Danilova N.V., Orlova Y.A., Efimenko A.YU. Searching for Associations between Biomarkers of Senescent Cells Accumulation in Different Tissues in Older and Oldest-Old Patients. *Problems of Geroscience*. 2023; 4: 261–264.