

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

ОЦЕНКА ПРОЦЕССА АУТОФАГИИ У МУЖЧИН РАЗНОЙ МАССЫ В РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

Тхакушинов Ибрагим Аскарбиевич
преподаватель кафедры пропедевтики внутренних болезней,
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Майкопский Государственный Технологический Университет»
г. Майкоп

ASSESSMENT OF THE AUTOPHAGY PROCESS IN MEN OF DIFFERENT BODY WEIGHT IN DIFFERENT AGE PERIODS

Tkhakushinov Ibragim Askarbievich
Lecturer of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases,
Federal State Financed Education Institution of Higher Education
"Maykop State Technological University",
Maykop

DOI: 10.31618/nas.2413-5291.2021.2.68.455

АННОТАЦИЯ

Исследуемая группа составила 20 мужчин различного возраста (14-69 лет) и веса. Для оценки процессов аутофагии была использована активность белка Beclin-1 (далее беклин-1). У лиц с нормальной массой тела выявлено наличие положительных достоверных корреляционных связей между уровнем беклина-1 и внеклеточной водой ($r=0,96$; $p<0,01$). В группе с ожирением определилась достоверная положительная связь между беклином-1 и количеством триглицеридов ($r=0,57$; $p<0,05$); мышечной массой ($r=0,62$; $p<0,05$); тощей массой ($r=0,62$; $p<0,05$); общей жидкостью ($r=0,62$; $p<0,05$). В пожилом возрасте выявилась прямая корреляционная связь между уровнем беклина-1 и внутриклеточной жидкостью ($r=0,84$; $p<0,05$). У мужчин в меньшей степени аутофагия зависела от возраста, а в большей степени от содержания внеклеточной воды - у лиц с нормальным весом и мышечной массы и содержания общей воды - у лиц с ожирением.

ABSTRACT

The study group consisted of 20 men of various ages (14-69 years) and weight. To assess the processes of autophagy, the activity of the protein Beclin-1 was used. In individuals with normal body weight, the presence of positive reliable correlations between the level of beclin-1 and extracellular water was revealed ($r = 0.96$; $p < 0.01$). In the obese group, there was a significant positive relationship between beclin-1 and the amount of triglycerides ($r = 0.57$; $p < 0.05$); muscle mass ($r = 0.62$; $p < 0.05$); lean mass ($r = 0.62$; $p < 0.05$); common liquid ($r = 0.62$; $p < 0.05$). In old age, there was a direct correlation between the level of beclin-1 and intracellular fluid ($r = 0.84$; $p < 0.05$). In men, autophagy was less dependent on age, and to a greater extent on the content of extracellular water in persons with normal weight and muscle mass and total water content in persons with obesity.

Ключевые слова: аутофагия, Beclin-1, мужчины, масса тела, возраст.

Key words: autophagy, Beclin-1, men, body weight, age.

Аутофагия – «самопоедание», то есть процесс, при котором компоненты клетки подвергаются деградации и рециркуляции. Макроаутофагия - представляет лизосомальный путь деградации, играет одну из самых важных ролей в построении обновленных компонентов клетки. Эти процессы дают понимание того, как активация или нарушение аутофагии влияет на развитие нейродегенеративных и воспалительных заболеваний [1,2].

Активно этот процесс начали изучать последние два десятилетия после исследований японского ученого Есинори Осуми (Yoshinori Ohsumi), который установил молекулярно-генетические механизмы аутофагии. Американские ученые Бет Левин (Levine Beth) и Даниэль Клионски (Klionsky Daniel J) изучали молекулярные механизмы аутофагии [3]. Итальянский и французский ученый Лоренцо

Галлуцци (Galluzzi Lorenzo) и его коллеги исследовали фармакологическую модуляцию аутофагии [4]. Важность этих исследований подтверждается тем, что все они были удостоены Нобелевской премии.

Большинство из этих исследований выполнены на клеточных культурах, либо на животных.

Однако, остается открытым вопрос, оценки процессов аутофагии у человека при физиологических и патологических состояниях.

Цель исследования: установить возможные закономерности активности аутофагии у мужчин разного возраста и веса.

Материал и методы исследования. Обследуемые мужчины в возрасте от 16 до 69 лет, массой тела от 68,6 до 198 кг, проходили комплексную оздоровительную программу на базе клиники «Центр Здоровье» в г. Майкопе. У мужчин

были собраны: жалобы, анамнез жизни. Проводилось: физикальное обследование, общеклинический и биохимический анализ крови (общий холестерин - ОХ, липопротеиды высокой плотности – ЛПВП, липопротеиды низкой плотности – ЛПНП, триглицериды – ТГ). Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по Кетле: отношение массы тела (кг) к росту (м²). Для оценки активности аутофагии был выбран наиболее информативный маркер Beclin-1 (беклин-1) [5]. Исследование беклина-1 в сыворотке крови проводили методом ИФА на аппарате «CLARIOstarplus» BMG LABTECH (Germany) при помощи тест-наборов «Cloud-Clone Corp» (USA). Концентрация фермента выражалась в пг/мл.

Были выделены три возрастные группы, согласно рекомендациям ВОЗ: молодой возраст от 18-44 (n=4), средний возраст от 45 до 60 лет (n=8) и пожилой возраст от 61 до 75 лет (n=6). В зависимости от массы тела были выделены группы с нормальным весом и ожирением. Ожирение считалось при индексе массы тела >30кг/м².

Анализ цифровых данных проводился с использованием программного обеспечения IBM SPSSStatistics (26.0). Для характеристики статистического ряда использовалась описательная статистика в процентилях (5%-95%), с вычислением медианы, среднего значения, ошибки средней, минимального и максимального значения. В целях сравнения средних значений использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Для выявления связей между исследуемыми параметрами использовался корреляционный анализ по Пирсону. Достоверной связью считалась при $p < 0,05$.

Полученные результаты и их обсуждение

Уровень Beclin – 1 колебался от 6,14пг/мл до 844,78пг/мл, в связи с чем было принято решение выбора межпроцентильного промежутка 5%-95% (n=17), значения которого составили от 9,8пг/мл до 141,75пг/мл (среднее – 48,85пг/мл; медиана – 35,47пг/мл; стандартное отклонение – 38,2пг/мл).

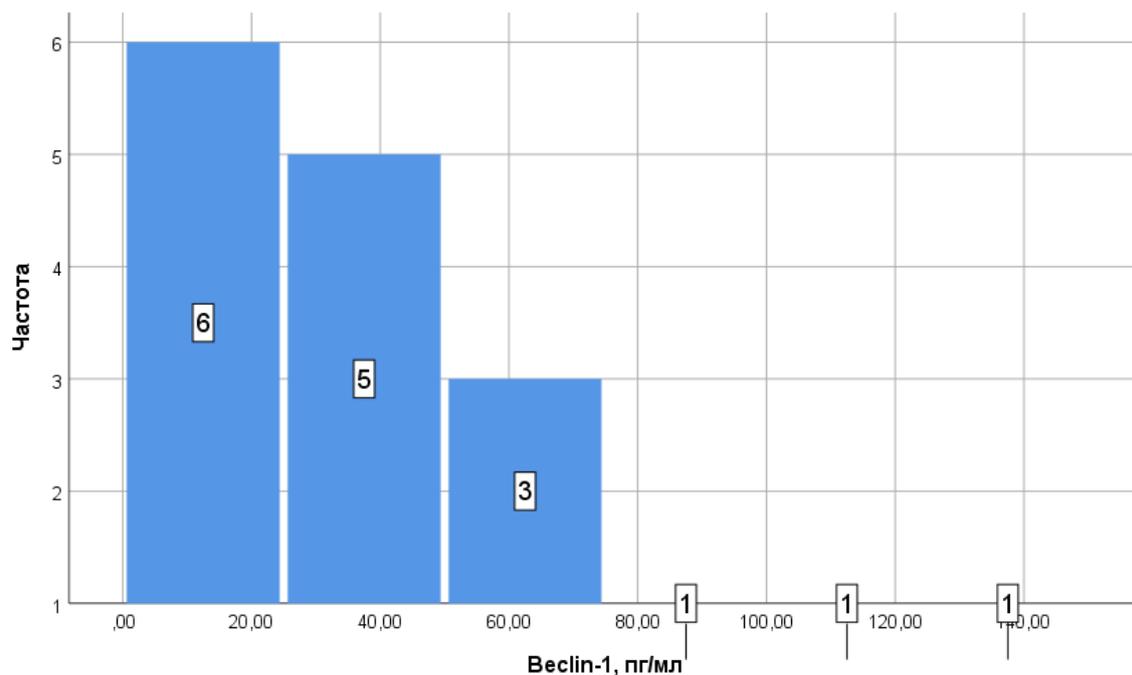


Рисунок 1. Частота встречаемости показателей беклина-1 в диапазоне от 0 до 140 пг/мл.

Как видно из рис. 1, наибольшее количество показателей находилось в диапазоне от 10 пг/мл до 60 пг/мл.

Таблица 1

Сравнение концентрации беклина в зависимости от возраста

| Исследуемые группы/возраст | М ср. | σ | m_0 | Медиана | Min | Max | P |
|----------------------------|-------|----------|-------|---------|------|-------|----------------|
| 1. Молодой (n=4) | 74,1 | 50,7 | 25,4 | 68,1 | 18,5 | 141,7 | $P_{1-2}=0,14$ |
| 2. Средний (n=8) | 38,3 | 28,6 | 10,1 | 27,5 | 9,8 | 87,4 | $P_{1-3}=0,37$ |
| 3. Пожилой (n=5) | 45,5 | 39,8 | 17,8 | 35,5 | 13,2 | 114,5 | $P_{2-3}=0,7$ |

Достоверных различий по среднестатистическим данным выявлено не было

как в группах с различным возрастом (табл. 1), так и в группе с разной массой тела (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение концентрации беклина в зависимости от массы тела

| Исследуемые группы | М ср. | σ | m ₀ | Медиана | Min | Max | P |
|----------------------|-------|------|----------------|---------|-------|--------|-----------------------|
| Нормальный вес (n=5) | 52,1 | 50,8 | 22,7 | 35,5 | 18,55 | 141,75 | P ₁₋₂ =0,8 |
| 2.Ожирение (n=12) | 47,5 | 35,2 | 9,9 | 37,8 | 9,8 | 114,5 | |

Представляло интерес провести спектра в зависимости от возраста с уровнем корреляционный анализ показателей липидного беклина-1 (табл. 3).

Таблица 3

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста

| Возрастные группы/возраст | Коэффициент корреляции | | | |
|---------------------------|------------------------|--------|------------------|--------------|
| | ЛПНП | ЛПВП | Общий холестерин | Триглицериды |
| 1.Вся группа (n=17) | 0,03 | -0,15 | 0,12 | 0,25 |
| 2.Молодой (n=4) | 0,5 | -0,61 | -0,27 | -0,12 |
| 3.Средний (n=8) | -0,17 | -0,63* | 0,07 | 0,65* |
| 4.Пожилкой (n=5) | 0,32 | 0,88 | 0,49 | 0,31 |

Примечание: *достоверность - p<0,05; **достоверность - p<0,01

В результате анализа в группе со средним ожирением была выявлена положительная достоверная корреляционная связь между возрастом была выявлена отрицательная достоверная корреляционная связь между уровнем беклина и ЛПВП концентрацией беклина-1 и триглицеридами (r=-0,63; p<0,05) и положительная между беклином и триглицеридами (r=0,65; p<0,05). В группе с

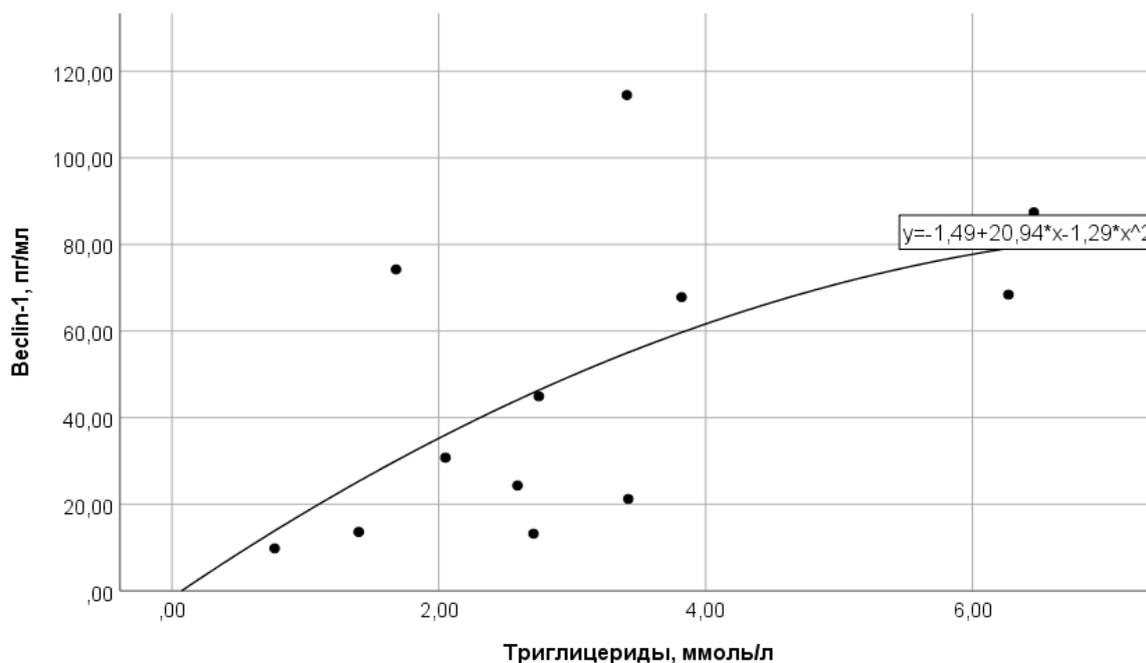


Рисунок 2. График корреляционной зависимости между триглицеридами и концентрацией беклина в группе с ожирением.

Таблица 4

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от массы тела

| Исследуемые группы | Коэффициент корреляции | | | |
|------------------------|------------------------|-------|------------------|--------------|
| | ЛПНП | ЛПВП | Общий холестерин | Триглицериды |
| 1.Нормальный вес (n=5) | 0,76 | -0,17 | 0,31 | -0,36 |
| 2.Ожирение (n=12) | -0,18 | -0,21 | 0,16 | 0,57* |

Примечание: *достоверность - p<0,05; **достоверность - p<0,01

Также выявилась достоверная положительная связь (табл. 5) в группе лиц пожилого возраста между концентрацией беклина и уровнем внеклеточной воды. У пациентов с ожирением такая связь нормальным весом выявлена высоко достоверная связь между уровнем беклина-1 и внеклеточной водой. У пациентов с ожирением такая связь

установлена между мышечной массой, тощей массой и содержанием общей воды (табл. 6).

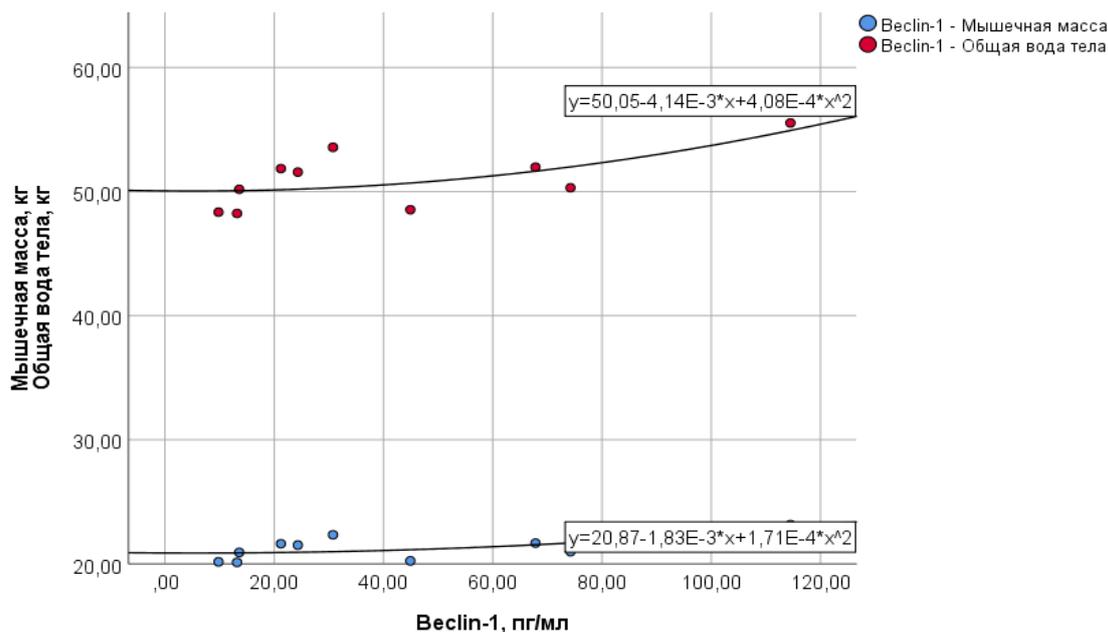


Рисунок 3. График корреляционной зависимости между мышечной массой, общей водой тела и концентрацией беклина в группе с ожирением.

Таблица 5

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста

| Исследуемые группы/возраст | Коэффициент корреляции | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|------|--------|------|--------|--------|--------|--------|-----------|-----------|
| | Во зрост | с | Ве | И МТ | М. М. | Т. М. | Ж. М. | О ВТ | Вне к. В. | Вну т. В. |
| 1.Вся группа (n=17) | - 0,23 | 0,02 | - 0,03 | 0,21 | 0,21 | 0,01 | - 0,21 | 0,21 | 0,11 | 0,2 |
| 2.Молодой (n=4) | 0,24 | 0,0 | - 0,12 | 0,39 | 0,39 | 0,02 | - 0,39 | 0,39 | 0,49 | 0,27 |
| 3.Средний (n=8) | 0,01 | 0,19 | 0,2 | 0,02 | - 0,02 | - 0,35 | 0,02 | - 0,02 | 0,2 | -0,2 |
| 4.Пожилые (n=5) | - 0,02 | 0,32 | 0,24 | 0,76 | 0,76 | 0,02 | - 0,76 | 0,76 | 0,22 | 0,84* |

Примечание: * достоверность - $p < 0,05$; ** достоверность - $p < 0,01$

Таблица 6

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела

| Исследуемые группы/возраст | Коэффициент корреляции | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|------|--------|-------|-------|-------|---------|-------|-----------|-----------|
| | Во зрост | с | Ве | И МТ | М. М. | Т. М. | Ж. М. | О ВТ | Вне к. В. | Вну т. В. |
| 1.Нормальный вес (n=5) | - 0,41 | 0,38 | - 0,16 | 0,52 | 0,52 | 0,14 | 0,52 | 0,52 | 0,96** | 0,03 |
| 2.Ожирение (n=12) | - 0,04 | 0,04 | 0,03 | 0,62* | 0,62* | 0,07 | - 0,62* | 0,62* | 0,06 | 0,47 |

Примечание: * достоверность - $p < 0,05$; ** достоверность - $p < 0,01$

Проведенный анализ показал, что при нормальном весе выявляются достоверные связи между беклином-1 и количеством эозинофилов ($r=0,97$; $p < 0,05$) и базофилов ($r=1,0$; $p < 0,01$); у лиц с ожирением достоверные связи между беклином-1 и лейкоцитами ($r=0,52$; $p < 0,05$).

Таблица 7

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями общего анализа крови в зависимости от возраста

| Исследуемые группы/ возраст | Коэффициент корреляции | | | | | | | | | |
|--------------------------------|------------------------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|------|-------|-------|
| | Эр. | Гем. | Лейк. | Баз. | Эоз. | Нейт. | Лимф. | Мон. | СОЭ | ИИ |
| 1.Вся группа (n=17) | 0,06 | 0,11 | 0,26 | 0,37 | 0,37 | -0,23 | 0,04 | 0,3 | 0,09 | 0,03 |
| 2.Молодой (n=4) | 0,8 | 0,8 | 0,4 | 1,00** | 0,99** | 0,1 | -0,63 | 0,83 | 0,82 | 0,5 |
| 3.Средний (n=8) | 0,01 | -0,07 | 0,47 | -0,2 | -0,3 | -0,2 | 0,2 | 0,09 | 0,6 | -0,17 |
| 4.Пожилой (n=5) | 0,03 | 0,26 | 0,76 | -0,45 | 0,13 | -0,4 | 0,55 | 0,13 | -0,13 | 0,32 |

Примечание: *достоверность - $p < 0,05$; **достоверность - $p < 0,01$

Таблица 8

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями общего анализа крови в зависимости от массы тела

| Исследуемые группы | Коэффициент корреляции | | | | | | | | | |
|------------------------|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| | Эр. | Гем. | Лейк. | Баз. | Эоз. | Нейт. | Лимф. | Мон. | СОЭ | ИИ |
| 1.Нормальный вес (n=5) | 0,62 | 0,42 | -0,06 | 0,97 | 0,97* | -0,35 | -0,04 | 0,68 | -0,11 | 0,76 |
| 2.Ожирение (n=12) | -0,21 | -0,09 | 0,52* | -0,54 | -0,39 | -0,13 | 0,16 | 0,07 | 0,24 | -0,18 |

Примечание: *достоверность - $p < 0,05$; **достоверность - $p < 0,01$

Таким образом, несмотря на отсутствие достоверных различий средних величин концентрации беклина в различных группах по возрасту и массе, в каждой отдельной группе были выявлены различные корреляционные связи между исследуемыми параметрами. Это свидетельствует о том, что эти два фактора могут оказывать влияние на активность процесса аутофагии. Так, для молодого и пожилого возраста активность беклина находится в прямой связи с содержанием воды (внеклеточной и общей, соответственно).

Кроме того, для пациентов с ожирением активность беклина находится в связи с количеством мышечной и тощей массы. Это можно объяснить тем, что активность митофагии наблюдается преимущественно в мышцах [6,7].

Для среднего возраста особенностью является отрицательная корреляционная связь с ЛПВП и прямая с уровнем триглицеридов. Выявленную связь объяснить трудно, однако можно предположить, что в этом возрастном периоде сказывается влияние неблагоприятных факторов, способствующих накоплению триглицеридов. В свою очередь, увеличение концентрации триглицеридов активизирует процесс аутофагии, способствующий поддержанию гомеостаза.

Список литературы.

1. Mizushima N., Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*. 2011. vol. 147. no. 4. P. 728-741.
2. Levine B., Croemer G. Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell*. 2019. vol. 176. no. 1-2. P. 11-42.
3. Levine B., Klionsky D. J. Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine: Breakthroughs in baker's yeast fuel advances in

biomedical research. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017. vol. 114. P. 201-205.

4. Galluzzi L., Bravo-San Pedro J. M., Levine B., Green D.R., Kroemer G. Pharmacological modulation of autophagy: therapeutic potential and persisting obstacles. 2017. vol. 16. P. 487-511.

5. Lu N., Li X., Tan R., An J., Cai Z., Hu X., Wang F., Wang H., Lu C., Lu H. HIF-1 α /Beclin-1-Mediated Autophagy Is Involved in Neuroprotection Induced by Hypoxic Preconditioning. *J. Mol. Neurosci*. 2018. vol. 66. no. 2. P. 238–250.

6. Del Rosso A., Vittorini S., Cavallini G., Zina Gori A.D., Masini M., Pollera M., Bergamini E. Ageing-related changes in the in vivo function of rat liver macroautophagy and proteolysis. *Exp Gerontol*. 2003. vol. 38. no. 5. P. 519-527.

7. Hamacher-Brady A., Brady N.R. Mitophagy programs: mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy. *Cell Mol Life Sci*. 2015. vol. 73. no. 4. 775-795.

Выводы:

1. Концентрация беклина-1 у мужчин свидетельствует о наличии разного уровня активности аутофагии у мужчин разного возраста и веса.

2. В различных возрастных группах выявлены корреляционные зависимости уровня беклина-1 с рядом физиологических параметров: у лиц пожилого возраста прямая зависимость с количеством внутриклеточной воды; у лиц среднего возраста – с концентрацией триглицеридов.

3. У мужчин с нормальным весом выявлена прямая корреляционная связь концентрации беклина-1 с объемом внеклеточной воды, а у лиц с ожирением – с мышечной, тощей массой, общим объемом воды и уровнем триглицеридов.