УДК 616.379-008.64-07-036.86: 616.895.8-093
DOI: http://doi.org/10.30978/CEES-2020-4-28

Роль довжини теломер у прогнозуванні когнітивних порушень у пацієнтів з церебральним атеросклерозом та цукровим діабетом

В. Є. Кондратюк [1], М. С. Черська [2], В. Г. Гурьянов [1]

[1] Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ
[2] ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

Порушення когнітивних функцій — одна з найважливіших характеристик хронічних цереброваскулярних хвороб, частота яких зростає з розвитком цукрового діабету (ЦД) 2 типу. Вік також відіграє надзвичайно важливу роль у визначенні функціонального стану організму. Вивчення клітинно-молекулярних змін клітинного старіння дає змогу встановити біомаркери, які впливають на цей процес [1, 2]. Дослідження відносної довжини теломер і активності теломерази є важливим та найбільш дискутабельним питанням при вивченні біологічного старіння. У багатьох дослідженнях продемонстровано зв'язок між стресом та зменшенням довжини теломер, між довжиною теломер та розвитком серцево-судинної патології [3—5]. Відомо, що меншу довжину теломер частіше відзначають у пацієнтів з поєднанням предіабету/діабету і атеросклеротичних захворювань порівняно з тими, хто має лише ЦД або серцево-судинне захворювання (ССЗ) [6]. F. Olivieri і співавт. показали, що меншу довжину теломер мали пацієнти, які страждали на ЦД і перенесли інфаркт міокарда, порівняно з тими, хто хворів на ЦД, але не мав в анамнезі інфаркту міокарда [7]. Таким чином, довжину теломер можна розцінювати як біомаркер старіння або стресу. З віком знижуються когнітивні функції та зменшується довжина теломер. Когнітивний дефіцит розвивається під час старіння і, можливо, пов'язаний з довжиною теломер. S. E. Harris і співавт. виявили обернено пропорційний зв'язок між вербальним тестом і довжиною теломер [8]. Не спостерігали жодних істотних взаємозв'язків з результатами тестів на невербальне міркування, вербальною декларативною пам'яттю та скринінгом на деменцію у пацієнтів віком 79 років. A. M. Valdes і співавт. за результатами обстеження 382 пацієнтів жіночої статі з широким діапазоном віку (від 19 до 78 років, середній вік — 50 років) виявили зв'язок між довжиною теломер і когнітивними функціями (у чотирьох із шести когнітивних тестів) [9]. Ці дослідження доводять, що довжина теломер пов'язана з когнітивними функціями та, можливо, може бути біомаркером когнітивного старіння.

Для діагностики порушень когнітивних функцій існує велика кількість тестів. У більшості сучасних епідеміологічних та клінічних досліджень для скринінгу та оцінки когнітивних порушень використовують методику MMSE, що підтверджує її валідність і придатність (https://nrcrm.gov.ua/downloads/mr_149.pdf).

Кондратюк Віталій Євгенович, д. мед. н., професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб № 2. E-mail: kondratiuk_v@ukr.net; Черська Марія Сергіївна, к. мед. н., зав. консультативно-діагностичним відділенням. E-mail: emariya83@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-3689-2683; Гурьянов Віталій Григорович , к. фіз.-мат. н., доцент каф. менеджменту охорони здоров'я, E-mail: i_@ukr.net.

Мета роботи — дослідити зв'язок між довжиною теломер і когнітивною функцією та виявити предиктори когнітивних порушень у пацієнтів з церебральним атеросклерозом та цукровим діабетом 2 типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У комплексному клініко-інструментальному дослідженні взяв участь 161 пацієнт з церебральним атеросклерозом I—III ступеня. Діагноз «церебральний атеросклероз» установлювали відповідно до класифікації атеросклерозу Всесвітньої організації охорони здоров'я (2015) та підтверджували даними лабораторних та інструментальних досліджень (ультразвукова доплерографія церебральних артерій, магнітно-резонансна томографія головного мозку).

Дизайн дослідження: просте, проспективне, нерандомізоване, з послідовним залученням пацієнтів.

У дослідження не залучали пацієнтів з усіма формами фібриляції передсердь, некоригованим артеріальним тиском > 160/90 мм рт. ст., іншими порушеннями ритму, які потребують проведення антиаритмічної терапії, зниженням фракції викиду < 40 % за даними двомірної ехокардіографії, клінічно вираженою серцевою недостатністю, значно вираженими порушеннями функції нирок і печінки, наркотичною або алкогольною залежністю, перенесеними гострими запальними захворюваннями протягом попереднього місяця. У дослідженні не брали участі пацієнти, які перенесли реваскуляризацію, з нестабільною стенокардією або гострим інфарктом міокарда та вадами серця.

Усім пацієнтам проведено загальноприйняте клінічне, лабораторне (загальний аналіз крові та сечі, визначення ліпідного профілю, рівня креатиніну, сечовини, глюкози, аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, білірубіну) і інструментальне (трансторакальна ехокардіографія, електрокардіографія, ультразвукова доплерографія судин голови та шиї, магнітно-резонансна томографія головного мозку) дослідження.

Етичні аспекти. Протокол дослідження був схвалений комітетами з етики Інституту ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України та Інституту геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України. Всі пацієнти дали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Гельсінкську декларацію (2000) і національні стандарти щодо участі пацієнтів у дослідженнях було враховано.

Збір і зберігання зразків крові. Зразки крові відбирали у вакутайнери, які містять ЕДТА. Протягом 30 хв після забору крові проводили виділення мононуклеарних клітин периферичної крові на градієнті (1,077 г/см^3). Після виділення клітини заморожували і зберігали в рідкому азоті за температури -196 °С. Виділення ДНК проводили з розморожених клітин, використовуючи метод фенол-хлороформного очищення [10]. Контроль чистоти, концентрації та цілісності ДНК здійснювали за допомогою спектрофотометрії і агарозного гель-електрофорезу.

Вимірювання довжини теломер. Відносну довжину теломер вимірювали за допомогою мультиплексної кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу (КПЛР-РЧ) [11]. Реакційну суміш для ПЛР готували з використанням комерційного набору реагентів Luna® Universal qPCR і RT-qPCR (New England Biolabs) з додаванням бетаїну (Sigma-Aldrich) до кінцевої концентрації 1 моль. Для мультиплексної ПЛР парателомерні праймери telg і telc (кінцеві концентрації кожного — 450 нмоль) були об'єднані з парою праймерів альбуміну albu і albd (кінцеві концентрації кожного — 250 нмоль) у майстер-мікс.

Список праймерів, використаних для аналізу ПЛР, наведено в табл. 1.

Профіль термоциклювання був таким: 95 °С — 15 хв, 2-го циклу: 94 °С — 15 с і 49 °С — 15 с, 32-го

Таблиця 1

Список праймерів, використаних для кількісної полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу

Назва праймера	Послідовність нуклеотидів праймера
TS	5'-AATCCGTCGAGCAGAGTT-3'
ACX	5'-GCGCGGCTTACCCTTACCCTTACCCTAACC-3'
telg	5'-ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTG GGTTTGGGTTAGTGT-3'
telc	5'-TGTTAGGTATCC CTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA-3'
albu	5'-CGGCGGCGGGCGGCGCGGGCTGGGCGGAA ATGCTGCACAGAATCCTTG-3'

циклу: 94 °C — 15 с, 62 °C — 10 с, 74 °C — 15 с і з отриманням сигналу, 84 °C — 10 с, 88 °C — 15 с і з отриманням сигналу. Для формування калібрувальної кривої ПЛР проводили для чотирьох концентрацій еталонної ДНК (у двох примірниках), які охоплюють діапазон 27-разових серійних розведень.

Усі зразки ДНК проаналізовано в триплетах. Криві ампліфікації були згенеровані програмним забезпеченням Opticon Monitor 3. Для цього, після термоциклювання і збору вихідних даних, за допомогою програмного забезпечення Opticon Monitor 3 для кожної постановки було побудовано дві стандартні криві: для теломерного сигналу і для гена сигналу однокопійного гена альбуміну. Відносну довжину теломер виражали у вигляді відношення T/S, де T — кількість теломерних повторів, S — кількість повторів гена альбуміну.

Вимірювання активності теломерази. Теломеразну активність визначали за допомогою протоколу ампліфікації тандемних повторів з детекцією в режимі реального часу [12]. Мононуклеарні клітини периферичної крові і клітини HEK293 (позитивний контроль) обробляли буфером для лізису NP-40 від Invitrogen (50 ммоль Tpic, pH 7,4, 250 ммоль NaCl, 5 ммоль ЕДТА, 50 ммоль NaF, 1 ммоль Na3VO4, 1 % Nonidet™ P40 (NP40) 0,02 % NaN3) з 1 ммоль PMSF (Sigma-Aldrich) і 10 мкл/мл (об/об) розчину з інгібітором протеаз (Sigma-Aldrich) на льоду протягом 30 хв. Подальше центрифугування проводили при 16 400 g протягом 20 хв за температури +4 °C. У нову пробірку переносили 180 мкл супернатанту. Вимірювання концентрації білка проводили за допомогою набору для аналізу білка Pierce™ BCA (Thermo Scientific) відповідно до протоколів виробника.

Реакційну суміш для КПЛР-РЧ готували на основі Luna Universal qPCR і RT-qPCR (New England Biolabs) з додаванням EGTA до кінцевої концентрації 5 мм, кінцева концентрація праймерів — 400 нмоль для ACX і 400 нмоль для TS. Додавали 2 мкл лізату до 23 мкл суміші протоколу ампліфікації тандемних повторів з детекцією в режимі реального часу та інкубували протягом 30 хв за температури 30 °C. Потім проводили ПЛР за таких умов: 95 °C — 1 хв, 40 циклів: 95 °C — 15 с, 60 °C — 1 хв і з отриманням сигналу. ПЛР-продукти кількісно визначали за допомогою Chromo4 (Bio-Rad) і аналізували в програмному забезпеченні Opticon Monitor v3.1. Клітини HEK293 використовували для генерації стандартної кривої, побудованої на точках п'яти варіантів розведення.

Вимірювання активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіону та інших маркерів оксидантного стресу. Для визначення активності каталази використовували гемолізат крові, який отримували шляхом осмотичного гемолізу цільної крові з дистильованою водою і одного циклу заморожування з подальшим центрифугуванням. Розведений гемолізат крові інкубували з розчином гідрогену пероксиду і спектрофотометрично визначали активність каталази за кількістю продукту реакції залишкового гідрогену пероксиду з молібдатом амонію. Для створення калібрувального графіка використовували розчин комерційно доступної каталази (Sigma, C9322). Результати виражали в одиницях активності ферменту на 1 мл крові.

Активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.1.15.1) у плазмі крові визначали непрямим спектрофотометричним методом на основі реакції супероксид-залежного окиснення кверцетину в лужному середовищі за наявності тетраметилетилендіаміну. Реакція супроводжується знебарвленням робочого розчину в ділянці пропускання з максимумом при 406 нм. Фермент перехоплює супероксид-радикали і пригнічує окиснення кверцетину. Щоразу за 20 хв інкубації ступінь інгібіції кількісно залежить від концентрації СОД. Вміст ферменту в біологічному матеріалі розраховують за допомогою калібрувального графіка, отриманого на підставі вимірювання активності комерційно доступного СОД (Sigma, S9697). Активність СОД виражали в одиницях активності на 1 мл плазми.

Концентрацію ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду (МДА)) визначали, використовуючи реакцію нагрівання МДА з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) у кислому середовищі з утворенням забарвленого триметинового комплексу з максимумом флуоресцентного випромінювання при μ = 530 нм за умов збудження світлом з μ = 484 нм. Плазму крові інкубували з ТБК за наявності трихлороцтової кислоти при нагріванні. Після охолодження зразків проводили екстракцію ТБК-активних продуктів н-бутанолом. Інтенсивність флуоресценції вимірювали на спектрофлуориметрі. Концентрацію ТБК-активних продуктів (МДА) розраховували за калібрувальною кривою, отриманою з використанням комерційного МДА (Sigma, 63287).

Вміст відновленого глутатіону (GSH) у плазмі крові визначали спектрофлуориметричним методом з використанням ортофталевого альдегіду, в результаті реакції якого з GSH утворюються високофлуо-

ресцентні продукти, які руйнуються випромінюванням при 350 нм і мають чітко виражений пік флуоресценції при 420 нм [13]. Концентрацію GSH розраховували за калібрувальною кривою, отриманою з використанням комерційного GSH (Сінбіас, Україна). Інтенсивність флуоресценції глікованих протеїнів у плазмі крові вимірювали при 370 нм та емісії 440 нм за допомогою спектрофлуорометра Varioscan. Для створення калібрувальної кривої готували умовний глікований білок (BSA-глюкоза). Суміш BSA і d-глюкози у фосфатному буфері інкубували за температури 37 °C протягом 6 тиж.

Вимірювання базових характеристик. Систолічний і діастолічний артеріальний тиск вимірювали двічі за допомогою стандартного сфігмоманометра в положенні пацієнта сидячи після не менше ніж 10 хв відпочинку.

Рівень глюкози в плазмі крові визначали стандартним глюкозооксидазним методом.

Нейропсихологічне тестування. Когнітивні порушення оцінювали за допомогою шкали Mini-mental state examination (MMSE) і Монреальської шкали когнітивної оцінки (MoCA) [9]. За шкалою MMSE, яка містить 6 пунктів, оцінювали орієнтацію у часі та місці, концентрацію уваги і лічбу, сприйняття, пам'ять, мовні функції. Відсутність когнітивного дефіциту відповідала 30 балам, легкі когнітивні порушення — 27—26 балам, помірні когнітивні порушення — 25—24 балам, деменція легкого ступеня — 23—20 балам, деменція помірного ступеня — 19—11 балам, тяжка деменція — ≤ 10 балів.

За допомогою MoCA оцінювали увагу, концентрацію, виконавчі функції, пам'ять, мову, зорово-конструктивні навички, абстрактне мислення, лічбу та орієнтацію. Час для проведення тесту MoCA становив 10 хв. Відсутність когнітивних порушень установлювали у разі ≥ 26 балів.

Виявлення психоемоційних порушень проводили з використанням шкали тривожності Спілбергера–Ханіна. Низька тривожність — ≤ 30 балів, помірна — 31—45 балів, висока — ≥ 46 балів.

Статистичний аналіз. Для представлення результатів у разі кількісних змінних розраховували середнє арифметичне значення показника і його середньоквадратичне відхилення (M ± SD) у разі нормального закону розподілу або медіану (Me) і значення першого (QI) і третього (QIII) квартилей у разі закону розподілу, відмінного від нормального. Перевірку розподілу на нормальність проводили з використанням критерію Шапіро—Уїлкі. Для якісних ознак розраховували їх частоту (%). При порівнянні кількісних показників у двох групах використовували t-критерій (у разі нормального закону розподілу) або критерій Манна—Уїтні (у разі закону розподілу, відмінного від нормального). При порівнянні якісних показників застосовували точний критерій Фішера.

Для аналізу зв'язку показника T/S (залежна змінна) з факторними ознаками використовували метод побудови та аналізу логістичних моделей регресії. Відношення шансів (ВШ) і його 95 % довірчий інтервал (95 % ДІ) розраховували для оцінки ступеня зв'язку між залежною і незалежними змінними [14]. Для аналізу адекватності моделей регресії проведено ROC-аналіз [14], розраховано площу під кривою операційних характеристик (AUC). Поріг значущості в усіх випадках установлено на рівні $p < 0,05$.

Статистичний аналіз проведено з використанням MedCalc v.18.10 (MedCalc Software Inc., Broekstraat, Бельгія, 1993—2018).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Пацієнтів розподілили на дві групи: I — < 26 балів за шкалою MMSE (помірний когнітивний дефіцит, n = 26), II — ≥ 26 балів за шкалою MMSE (легкий когнітивний дефіцит, n = 135) (табл. 2).

У результаті аналізу виявлено, що у хворих групи I довжина теломер статистично значущо коротше, пацієнти менше навчалися, у них більш виражена ситуативна тривожність, потовщення комплексу інтима-медіа в обох сонних артеріях, виражене порушення когнітивних функцій за шкалою MoCA ($p < 0,05$). Пацієнти групи II мали довші теломери, довше навчалися, мали високу особистісну тривожність. Обидві групи були порівнянні за середнім віком, співвідношенням статей і активністю теломерази ($p < 0,05$).

Для виявлення чинників, які впливають на когнітивні функції, використовували метод побудови логістичних моделей регресії: MMSE < 26 балів (помірний когнітивний дефіцит, n = 26) — випадок (Y = 1), MMSE ≥26 балів (легкий когнітивний дефіцит, n = 161) — не випадок (Y = 0).

Слід ураховувати, що саме комбінація чинників ризику, а не чинники ризику окремо, може призвести до вкорочення теломер [15]. Для відбору сукупності значущих чинників ризику використовували метод покрокового залучення/вилучення ознак (Stepwise при порозі вилучення $p > 0,15$ і порозі залучення $p < 0,03$). На виділених значущих чинни-

Таблиця 2

Клініко-інструментальна та лабораторна характеристика пацієнтів

Показник	Група I, n = 26		Група II, n = 135		p
	Me	Q1;Q3	Me	Q1;Q3	
Частка осіб з інсультом, %	69,2		42,2		0,04
Частка осіб з ЦД, %	42,9		44,5		0,16
Глюкоза в крові натще, ммоль/л	4,95 ± 1,86		4,87 ± 1,74		0,76
Глікований гемоглобін, %	6,38 ± 0,76		6,43 ± 0,57		0,82
Тривалість ЦД, роки	4,80 ± 1,78		4,90 ± 2,10		0,80
Каталаза, од.	503,92	439,28; 599,68	549,41	446,46;661,93	0,21
GSH, мкмоль/л	3,45	3,39; 3,63	3,49	3,38;3,60	0,85
СОД, од.	8,51	8,15; 8,87	8,43	7,85; 9,23	0,79
ТБК-речовини, мкмоль/л	17,81	16,91; 21,33	17,54	16,03;19,11	0,35
Кінцеві продукти глікування, мкмоль/л (AGE)	27,78	24,54; 33,09	31,66	26,48; 36,45	0,15
Активність теломерази	2,6	1,96; 3,44	3,2	2,34; 4,29	0,32
Довжина теломер, у. о.	2,34	1,91; 2,49	2,74	2,17; 3,58	0,03
Навчання, роки	15,5	12,00; 16,00	16	15,00;18,00	0,01
MoCA, бал	22	17,00; 22,00	27	25,00;28,00	0,01
ТР ситуативна, бал	45	37,00; 45,00	36	32,00;42,00	0,03
ТР особистісна, бал	45	36,50; 46,50	47	42,00; 51,00	0,03
Вік, роки	65,5	61,00; 79,00	63	59,00; 70,75	0,14
ЛПНГ, ммоль/л	2,73	2,17; 4,02	2,98	2,73; 4,32	0,14
КІМ справа, см	1	1,00; 1,10	1	0,96; 1,10	0,03
КІМ зліва, см	1	1,00; 1,20	1	1,00; 1,10	0,03
Кілометраж на день, км	2	1,00; 3,00	2	1,00;3,00	0,09
Тривалість перегляду телевізора, год	3	2,00; 5,50	3	2,00; 5,00	0,78
Індекс HRV	6,50	5,00; 10,00	8	6,00; 9,00	0,17
КДО, мл	96,50	88,00; 126,10	106,00	91,40; 131,50	0,19
ФВ, %	62,00	58,00; 64,00	62,00	58,75; 64,25	0,29
ММЛШ, г	176,50	137,00; 230,00	182,00	152,00; 237,00	0,58
E/A	0,83	0,75; 1,13	0,81	0,70; 1,15	0,57
E/E'	8,00	6,00; 9,50	7,00	6,00; 8,00	0,09

Примітка. ТР — тривожність; ЛПНГ — ліпопротеїди низької густини; КІМ — комплекс інтима-медіа; індекс HRV — індекс варіабельності ритму серця; КДО — кінцево-діастолічний об'єм; ФВ — фракція викиду; ММЛШ — маса міокарда лівого шлуночка; E/A і E/E' — показники діастолічної функції лівого шлуночка.

ках ризику побудовано багатофакторну модель логістичної регресії (табл. 3).

Виявлено добру узгодженість виділених факторних ознак з ризиком погіршення когнітивних функцій (AUC = 0,91, 95 % ДІ — 0,82—0,96) (рисунок), що може свідчити про повноту моделі та предикторів погіршення когнітивних функцій, розглянутих у дослідженні. Всі наведені в табл. 3 показники є вагомими в загальній багатофакторній моделі.

Питання щодо взаємозв'язку КІМ і біології теломер не вирішене. На думку одних дослідників, не існує зв'язку між виявами субклінічного атеросклерозу і довжиною теломер, коротші теломери не пов'язані з атеросклерозом [3, 16]. У деяких дослідженнях отримано протилежні результати [2, 15]. Можна припустити, що взаємозв'язок довжини теломер з розвитком ССЗ може бути опосередкований впливом так званих модулювальних чинників, які визначають вираженість оксидантного стресу і хронічного запалення. Прискорене вкорочення теломер може призводити до старіння ендотелію і виникнення атеросклерозу з подальшим розвитком ССЗ.

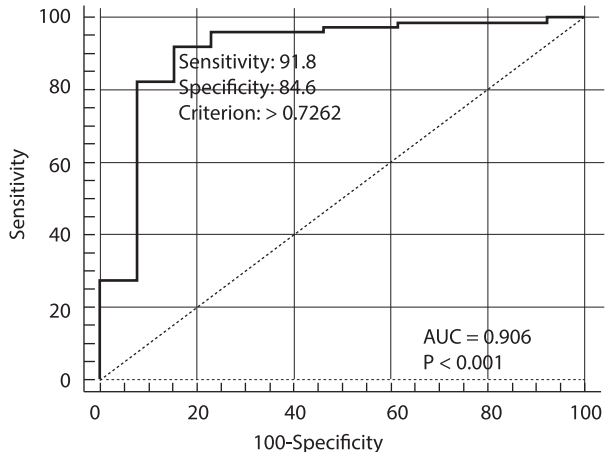

Рисунок. *ROC-крива 3-факторної моделі прогнозування ризику зниження когнітивних функцій AUC = 0,91 (95 % ДІ 0,82—0,96)*

Невелика кількість праць присвячена вивченню зв'язків між когнітивними та емоційними психічними процесами і ділянками ДНК, які не кодують амінокислотну послідовність пептидних та білкових молекул, але активно беруть участь в адаптації організму до умов довкілля, старінні та визначенні тривалості життя. Такими ділянками ДНК є теломери — кінцеві структури хромосом еукаріотів, які захищають лінійні хромосоми від деградації та злиття, беруть участь у процесі клітинного ділення і підтриманні стабільності генома. Теломера складається з повторюваних двохланцюгових (5'TTAGGGn-3') і одноланцюгових (G-ланцюг) ділянок ДНК, які, переплітаючись, утворюють t-петлю. Довжина теломери людини становить 250—1500 повторів послідовності TTAGGG. У результаті кожного поділу клітини відбувається вкорочення теломер, що пов'язано з неповною реплікацією кінців хромосом [13]. Процес укорочення теломер обмежений так званою межею Хейфліка — межа поділу соматичних клітин. У людини вони гинуть приблизно після 50 поділів і виявляють ознаки старіння при наближенні до цієї межі. Скорочення довжини теломер з віком лежить в основі механізму реплікативного старіння. Підтримка певної довжини теломер відбувається за рахунок активності ферменту теломерази, яка утворює з теломерами єдину функціональну систему теломера—теломераза. Припускають, що в основі процесів психічної діяльності лежить механізм функціонування системи теломера—теломераза і асоційованої з цією системою експресії генів фізіологічно активних речовин.

Вивчення вікового погіршення когнітивних функцій, пов'язаного з малою довжиною теломер лейкоцитів, у здорових чоловіків віком 65—91 років показало, що воно поєднується зі зміною низки показників периферичної крові: зниженням концентрації альбуміну, β-амілоїду, збільшенням вмісту глюкози, С-реактивного білка, прозапального інтерлейкіну-6 і цистатину С, який є предиктором хронічної ниркової недостатності та ССЗ. Автори припустили, що загальною причиною зменшення довжини теломер і погіршення когнітивних функцій є оксидантний стрес, пов'язаний з дисфункцією мітохондрій [5].

Підвищена запальна активність прискорює вкорочення теломер за рахунок як активації розмноження клітин, так і вивільнення активних форм кисню [5]. Взаємозв'язок активності теломерази та хронічного запалення неоднозначний. Хронічне запалення на ранній стадії через різні сигнальні шляхи (за участю NF-κB, протеїнкінази С або Akt-кінази) за допомогою фосфорилювання або транскрипції hTERT здатне активувати теломеразу, що, ймовірно, компенсує прискорене вкорочення теломер. Однак на пізніх етапах уповільненого запалення активність теломерази знижується, що призводить до вкорочення теломер [2]. У нашому дослідженні ЦД не пов'язаний з довжиною теломер і активністю теломерази. Це узгоджується з результатами іншого дослідження [12], в якому не було

Таблиця 3

Багатофакторний аналіз показників

Незалежні змінні	Коефіцієнт регресії (b ± m)	Рівень значущості відмінності коефіцієнта від 0, p	ВШ (95 % ДІ)
Роки навчання	0,31 ± 0,15	0,03	1,37 (1,02—1,84)
КІМ	–8,77 ± 3,41	0,01	0,0002 (0,001—0,12)
Довжина теломер	1,33 ± 0,62	0,03	3,78 (1,13—12,65)

Примітка. КІМ — комплекс інтима-медіа.

виявлено зв'язку між зменшенням довжини лімфоцитарних теломер і показниками вуглеводного обміну. Можливо, це можна пояснити невеликою тривалістю ЦД та відсутністю тривалої вираженої гіперглікемії, оскільки саме тривала гіперглікемія пов'язана з розвитком вираженого і стійкого оксидантного стресу. Згідно з нашими даними, рівень оксидантного стресу, хронічного запалення і активність теломерази у пацієнтів з ЦД 2 типу значуще не відрізнялися. Можна припустити, що у разі невеликої тривалості ЦД 2 типу генетично зумовлена велика довжина теломер захищає пацієнтів від шкідливої дії оксидантного стресу і хронічного запалення, забезпечуючи більш якісне та швидке відновлення пошкоджених тканин. У нашому дослідженні встановлено обернено пропорційний зв'язок між когнітивним зниженням і товщиною КІМ сонних артерій та прямо пропорційний — між довжиною теломер і тривалістю навчання незалежно від наявності ЦД 2 типу.

ВИСНОВКИ

1. Для пацієнтів з церебральним атеросклерозом і цукровим діабетом з помірними когнітивними порушеннями характерні короткі теломери, більш виражена ситуативна тривожність і потовщення комплексу інтима-медіа сонних артерій.

2. Пацієнтам з церебральним атеросклерозом і цукровим діабетом з легкими когнітивними порушеннями притаманні довші теломери, висока особистісна тривожність і вищий рівень освіти.

3. Для хворих на церебральний атеросклероз різних стадій з ЦД 2 типу предикторами когнітивних порушень є довжина теломер, товщина комплексу інтима-медіа загальних сонних артерій і тривалість навчання (AUC = 0,91, 95 % ДІ 0,82—0,96).

Конфлікт інтересів: *відсутній.*

Участь авторів: концепція і дизайн — В. Є. Кондратюк, М. С. Черська; збір, обробка матеріалу та написання тексту — М. С. Черська; статистичне опрацювання даних — В. Г. Гурьянов; редагування тексту — В. Є. Кондратюк.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ellehoj H, Bendix L, Osler M. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease in a cohort of 1,397 Danish men and women. Cardiology. 2015;133(3):173-7.
2. Streltsova L, Tkacheva O, Plokhova E. et al. Age-related changes in heart rate variability and their relation with leucocyte telomere length. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2017;16(1):54-60.
3. Denil S, Rietzschel E, De Buyzere M. et al. On cross-sectional associations of leukocyte telomere length with cardiac systolic, diastolic and vascular function: The Asklepios Study. PLoS ONE. 2014;9(12):e115071.
4. Medical Statistics. 3rd Ed. 2019; Direct Textbook. [online] Available at: https://www.directtextbook.com/isbn/9781405180511 [Accessed 11 Jul. 2019]. ISBN 9781405180511.
5. Jin X, Pan B, Dang X, Wu H, Xu D. Relationship between short telomere length and stroke. Medicine. 2018;97(39):e12489.
6. Khalangot M, Krasnienkov D, Vaiserman A. et al. Leukocyte telomere length is inversely associated with post-load but not with fasting plasma glucose levels. Experimental Biology and Medicine. 2017;242(7):700-8.
7. Olivieri F, Lorenzi M, Antonicelli R. et al. Leukocyte telomere shortening in elderly Type 2 DM patients with previous myocardial infarction. Atherosclerosis. 2009;206(2):588-93. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.03.034.
8. Harris SE, Deary IJ, MacIntyre A. et al. The association between telomere length, physical health, cognitive ageing, and mortality in non-demented older people. Neurosci Lett. 2006;406(3):260-4. doi: 10.1016/j.neulet.2006.07.055.
9. Valdes AM, Deary IJ, Gardner J, et al. Leukocyte telomere length is associated with cognitive performance in healthy women. Neurobiol Aging. 2010;31(6):986-92. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2008.07.012.
10. Sambrook J, Russell D. Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. Cold Spring Harbor Protocols. 2006;1:pdb.prot4455.
11. Collerton J, Barrass K, Bond J. et al. The Newcastle 85+ study: biological, clinical and psychosocial factors associated with healthy ageing: study protocol. BMC Geriatrics. 2007;7:1.
12. Benetos A, Toupance S, Gautier S. et al. Short leukocyte telomere length precedes clinical expression of atherosclerosis. Circulation Research. 2018;122(4):616-23.
13. Toupance S, Labat C, Temmar M. et al. Short telomeres, but not telomere attrition rates, are associated with carotid atherosclerosis. Hypertension. 2017;70(2):420-5.
14. Banerjee P, Jagadeesh S. Non-radioactive assay methods for the assessment of telomerase activity and telomere length. Methods in Molecular Biology. 2009;383-94.
15. Staerk L, Wang B, Lunetta K. et al. Association between leukocyte telomere length and the risk of incident atrial

fibrillation: The Framingham Heart Study. Journal of the American Heart Association. 2017;6(11).
16. Cawthon R. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. Nucleic Acids Research. 2009;37(3):e21-e21.

РЕЗЮМЕ

Роль довжини теломер у прогнозуванні когнітивних порушень у пацієнтів з церебральним атеросклерозом та цукровим діабетом

В. Є. Кондратюк [1], М. С. Черська [2], В. Г. Гурьянов [1]

[1] Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ
[2] ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

Мета роботи — дослідити зв'язок між довжиною теломер і когнітивною функцією та виявити предиктори когнітивних порушень у пацієнтів з церебральним атеросклерозом і цукровим діабетом (ЦД) 2 типу.

Матеріали та методи. У комплексному клініко-інструментальному дослідженні взяв участь 161 пацієнт з церебральним атеросклерозом I—III ступеня. Пацієнтів розподілили на дві групи: I (n = 26) — з оцінкою за шкалою Mini-mental state examination (MMSE) < 26 балів (помірний когнітивний дефіцит), II (n = 135) — з оцінкою ≥ 26 балів (легкий когнітивний дефіцит). Обидві групи були порівнянні за віком, співвідношенням статей і активністю теломерази (p < 0,05). Усім пацієнтам проведено загальноприйняте клінічне, лабораторне та інструментальне (трансторакальна ехокардіографія, електрокардіографія, ультразвукова доплерографія судин голови та шиї, магнітно-резонансна томографія головного мозку) дослідження. Відносну довжину теломер вимірювали за допомогою мультиплексної кількісної полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу.

Результати та обговорення. У хворих групи I довжина теломер була статистично значущо менше, пацієнти менше навчалися, у них була більш виражена ситуативна тривожність, більша товщина комплексу інтима-медіа в обох сонних артеріях, виражене порушення когнітивних функцій за Монреальською шкалою когнітивної оцінки (p < 0,05). Пацієнти групи II мали довші теломери, довше навчалися, у них була більш виражена особистісна тривожність. встановлено обернено пропорційний зв'язок між когнітивним зниженням і товщиною комплексу інтима-медіа сонних артерій та прямо пропорційний — між довжиною теломер і тривалістю навчання незалежно від наявності ЦД 2 типу.

Висновки. Для хворих на церебральний атеросклероз різної стадії з ЦД предикторами когнітивних порушень є довжина теломер, товщина комплексу інтима-медіа загальних сонних артерій і тривалість навчання (AUC = 0,91 (95 % довірчий інтервал — 0,82—0,96)).

Ключові слова: когнітивні функції, довжина теломер, церебральний атеросклероз, цукровий діабет 2 типу

РЕЗЮМЕ

Роль длины теломер в прогнозировании когнитивных нарушений у пациентов с церебральным атеросклерозом и сахарным диабетом

В. Е. Кондратюк [1], М. С. Черская [2], В. Г. Гурьянов [1]

[1] Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев
[2] ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины », Киев

Цель работы — исследовать связь между длиной теломер и когнитивной функцией и выявить предикторы когнитивных нарушений у пациентов с церебральным атеросклерозом и сахарным диабетом (СД) 2 типа.

Материалы и методы. В комплексном клинико-инструментальном исследовании принял участие 161 пациент с церебральным атеросклерозом I–III степени. Пациентов разделили на две группы: I (n = 26) — с оценкой по шкале Mini-mental state examination (MMSE) < 26 баллов (умеренный когнитивный дефицит), II (n = 135) — с оценкой ≥ 26 баллов (легкий когнитивный дефицит). Обе группы были сопоставимы по возрасту, соотношению полов и активности теломеразы (p < 0,05). Всем пациентам проведено общепринятое клиническое, лабораторное и инструментальное (трансторакальная эхокардиография, электрокардиография, ультразвуковая допплерография сосудов головы и шеи, магнитно-резонансная томография головного мозга) исследования. Относительную длину теломер измеряли с помощью мультиплексной количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. У больных группы I длина теломер была статистически значимо меньше,

пациенты меньше учились, у них была более выражена ситуативная тревожность, больше толщина комплекса интима-медиа в обоих сонных артериях, более выраженное нарушение когнитивных функций по Монреальской шкале когнитивной оценки (p < 0,05). Пациенты группы II имели более длинные теломеры, дольше учились, у них была более выражена личностная тревожность. Установлена обратно пропорциональная связь между когнитивным снижением и толщиной комплекса интима-медиа сонных артерий и прямо пропорциональная — между длиной теломер и продолжительностью обучения независимо от наличия СД 2 типа.

Выводы. Для больных с церебральным атеросклерозом разной стадии с СД предикторами когнитивных нарушений являются длина теломер, толщина комплекса интима-медиа общих сонных артерий и продолжительность обучения (AUC = 0,91 (95 % доверительный интервал — 0,82—0,96)).

Ключевые слова: когнитивные функции, длина теломер, церебральный атеросклероз, сахарный диабет 2 типа.

SUMMARY

The role of telomere length in predicting cognitive impairment in patients with cerebral atherosclerosis and diabetes mellitus

V. Ye. Kondratiuk [1], M. S. Cherska [2], V. H. Hurianov [1]

[1] Bogomolets National Medical University, Kyiv

[2] State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine», Kyiv

The purpose of the work was to investigate the relationship between telomere length and cognitive function and to identify predictors of cognitive impairment in patients with cerebral atherosclerosis and DM.

Materials and methods. 161 patients with stage I—III cerebral atherosclerosis were included in complex clinical and instrumental research.Patients were divided into 2 groups: I — with scores on the MMSE scale < 26 (moderate cognitive deficit, 26 patients), II — with scores on the MMSE scale ≥ 26 (mild cognitive deficit, 135patients). Both groups were comparable in age, sex ratio and telomerase activity (p < 0.05). All patients underwent conventional clinical, laboratory and instrumental (transthoracic echocardiography, electrocardiography, ultrasound Doppler of head and neck, magnetic resonance imaging of the brain) assessments. The relative length of the telomere was measured using a multiplex quantitative real-time polymerase chain reaction.

Results and discussion. The analysis revealed that in patients of group I telomere length was statistically significantly shorter, patients were less educated, they had more pronounced situational anxiety, more pronounced thickening of complex intima-media in both carotid arteries, and on the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) scale they had severe cognitive impairment (p < 0.05). Group II patients had longer telomeres, more education, and high personal anxiety. An inverse relationship has been established between cognitive decline and the thickness of the intima-media carotid artery complex and a direct relationship between telomere length and duration of education, regardless of the presence of type 2 DM.

Conclusions. For patients with cerebral atherosclerosis of different stages withDM, predictors of cognitive impairment are telomere length, thickness of the common carotid arteries and duration of education (AUC = 0.91; 95% CI 0.82—0.96).

Keywords: cognitive functions, telomere length, cerebral atherosclerosis, type 2 diabetesmellitus.

Дата надходження до редакції 17.09.2020 р.