

Длина теломер и состояние сосудистой стенки у пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Дудинская Е.Н.¹, Ткачева О.Н.¹, Шестакова М.В.^{2, 3}, Браилова Н.В.¹, Стражеско И.Д.¹, Акашева Д.У.¹, Исайкина О.Ю.¹, Покровская М.С.¹, Шарашкина Н.В.¹, Бойцов С.А.¹

¹ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва (директор – профессор, д.м.н. С.А. Бойцов)

²ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва (директор – академик РАН И.И. Дедов)

³ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва (ректор – член-корр. РАН П.В. Глыбочко)

Цель. Изучить изменения структуры и функции артерий в зависимости от длины теломер из периферических лимфоцитов и наличия сахарного диабета 2 типа (СД2).

Материалы и методы. В исследование включено 50 пациентов с СД2 без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и 49 человек контрольной группы. Всем участникам выполнена оценка углеводного обмена, дуплексное сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима-медиа (ТКИМ), наличия атеросклеротических бляшек, измерение каротидно-фemorальной скорости распространения пульсовой волны (СРПВ), измерение длины лимфоцитарных теломер.

Результаты. Изменения сосудов были более выражены у пациентов с СД2. У пациентов с СД2 длина лимфоцитарных теломер оказалась короче, чем у лиц без диабета ($9,53 \pm 0,1$ и $9,86 \pm 0,1$, $p=0,033$). Все пациенты были разделены по длине лимфоцитарных теломер. В группе СД2 выявлены достоверные различия в состоянии сосудистой стенки: СРПВ у лиц с «длинными» теломерами – $10,58 \pm 0,1$ м/с, с «короткими» теломерами – $15,08 \pm 1,3$ м/с ($p=0,012$), ТКИМ у лиц с «длинными» теломерами – $0,80 \pm 0,09$ мм, с «короткими теломерами» – $0,87 \pm 0,05$ мм ($p=0,024$). При сравнении групп с «длинными» теломерами не выявлено достоверных различий в структуре артерий: СРПВ $10,58 \pm 0,1$ м/с и $10,5 \pm 0,5$ м/с ($p=0,913$), ТКИМ – $0,80 \pm 0,09$ мм и $0,73 \pm 0,03$ мм ($p=0,12$). А при сравнении групп с «короткими» теломерами выявлены достоверные различия в изменениях сосудистой стенки: СРПВ $15,08 \pm 1,3$ м/с и $10,7 \pm 0,5$ м/с ($p=0,015$). ТКИМ – $0,87 \pm 0,1$ мм и $0,78 \pm 0,1$ мм ($p=0,03$).

Заключение. Признаки сосудистого старения были более выражены у пациентов с СД2. Однако несмотря на наличие диабета, сосудистые изменения были минимальны у пациентов с «длинными» лимфоцитарными теломерами и сравнимы с состоянием сосудистой стенки здоровых людей. Длина лимфоцитарных теломер, возможно, обладает протективным действием на сосудистую стенку, предохраняя ее от повреждающего действия нарушений углеводного обмена.

Ключевые слова: длина теломер; сосудистое старение; сахарный диабет; инсулинорезистентность

Telomere length and vascular wall in patients with type 2 diabetes mellitus

Dudinskaya E.N.¹, Tkacheva O.N.¹, Shestakova M.V.^{2, 3}, Brailova N.V.¹, Strazhesko I.D.¹, Akasheva D.U.¹, Isaykina O.Y.¹, Pokrovskaya M.S.¹, Sharashkina N.V.¹, Boytsov S.A.¹

¹National Research Center for Preventive Medicine Moscow, Russian Federation

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

³Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Aim. To study the relationship between changes in the artery structure and function and peripheral lymphocyte telomere length in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2).

Materials and methods. A total of 50 patients with T2DM and without clinical manifestations of cardiovascular disease (CVD) were included in the study; the control group consisted of 49 people. The following tests were conducted for all study participants: carbohydrate metabolism evaluation, carotid artery duplex scan to measure intima–media complex thickness (IMT) and to determine the presence of atherosclerotic plaques, carotid–femor pulse wave velocity (PWV) measurement and lymphocyte telomere length measurement.

Results. The vascular changes were more pronounced in patients with T2DM than in controls. The telomeres were shorter in patients with T2DM than in those without diabetes (9.53 ± 0.1 vs 9.86 ± 0.1 , $p=0.033$). The participants were divided according to the telomere length. Among patients with T2DM, there were significant differences in the condition of the vascular wall [PWV: 10.58 ± 0.1 m/s in patients with ‘long’ telomeres and 15.08 ± 1.3 m/s in patients with ‘short’ telomeres; IMT: 0.80 ± 0.09 mm in patients with ‘long’ telomeres and 0.87 ± 0.05 mm in patients with ‘short’ telomeres ($p=0.024$)]. There were no significant differences in the arterial structure between the patient and control groups with ‘long’ telomeres [PWV: 10.58 ± 0.1 m/s vs 10.5 ± 0.5 m/s ($p=0.913$); IMT: 0.80 ± 0.09 mm vs 0.73 ± 0.03 mm ($p=0.12$)]. However, there were significant differences in the vascular wall condition between the patient and control groups with ‘short’ telomeres [PWV: 15.08 ± 1.3 m/s vs 10.7 ± 0.5 m/s ($p=0.015$); IMT: 0.87 ± 0.1 vs 0.78 ± 0.1 ($p=0.03$)].

Conclusions. *The signs of vascular ageing were more pronounced in patients with T2DM than in controls. However, despite diabetes, vascular changes were minimal in patients with 'long' lymphocyte telomeres, comparable with the state of the vascular walls in healthy individuals. Thus, enhanced lymphocyte telomere length may have a protective effect on the vascular wall and may prevent damage from carbohydrate metabolism disorders.*

Keywords: *telomere length; vascular aging; diabetes mellitus; insulin resistance*

DOI: 10.14341/DM2014331-38

Сахарный диабет (СД) — хроническое неинфекционное заболевание, рост распространенности которого приобрел масштабы эпидемии. СД 2 типа (СД2) неизбежно приводит к развитию микро- и макрососудистых осложнений, ухудшает течение и прогноз сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и занимает одно из ведущих мест в структуре смертности населения.

К настоящему времени получено огромное количество подтверждений того факта, что связанные со старением эндотелиальная дисфункция, утолщение и повышение жесткости сосудистой стенки создают метаболически и ферментативно активную среду, которая способствует началу или прогрессированию заболевания сосудов [1]. Свой вклад в изменения состояния сосудистой стенки вносят следующие патологические процессы: увеличение количества коллагена с образованием прочных перемычек между его волокнами, фрагментация и уменьшение содержания эластина, увеличение концентрации гликотоксина и накопление конечных продуктов гликирования (КПГ) [2], а также утолщение комплекса интима-медиа (КИМ), которое происходит за счет накопления белков экстрацеллюлярного матрикса, коллагена, гликозаминогликанов, гладкомышечных клеток, усиления экспрессии молекул адгезии и адгезии моноцитов к эндотелиальной поверхности [3].

Результаты экспериментальных работ показывают, что нарушения углеводного обмена способствуют ускоренным изменениям сосудов. Так, например, Facchini F. и соавт. (2001) установили, что гиперинсулинемия может способствовать усилению окислительного стресса и, тем самым, независимо от гипергликемии, ускорять старение сосудов и появление ассоциированных с возрастом заболеваний [4]. Также было установлено, что инсулинорезистентность (ИР) является предиктором развития атеросклероза и сердечно-сосудистых событий независимо от других факторов риска, включая содержание липидов, а высокая гликемия способствует старению эндотелиальных клеток, дисфункции эндотелия и повышению жесткости сосудистой стенки [5]. В последнее время опубликованы исследования, в которых показано, что повышение жесткости артерий происходит и на начальных этапах нарушения углеводного обмена, когда ИР еще не сопровождается повышением гликемии [6, 7].

Возможно, одной из причин разной скорости сосудистого старения у пациентов с СД2 является изначально разная «генетическая защищенность» сосудов от воздействия внешних факторов. Некоторые открытия в развитии сосудистой биологии позволили проникнуть внутрь молекулярных механизмов старения и предпринять по-

пытку предупредить и замедлить процессы ускоренного старения артерий.

Одним из наиболее обсуждаемых сегодня генетических маркеров старения является длина теломер периферических лимфоцитов. Лимфоцитарные теломеры — это концевые участки линейной молекулы ДНК, которые состоят из повторяющейся последовательности нуклеотидов ТTAGGG. Теломеры, защищая линейные концы хромосом от деградации и слияния, поддерживают стабильность генома. Теломерная ДНК соматических клеток постепенно укорачивается при каждом делении клеток вследствие неполной репликации концевых участков (концевой недорепликации). Как только длина теломерной ДНК становится угрожающе низкой, наступает старение клетки, то есть ее неспособность к дальнейшему делению и репарации повреждений (при сохранении метаболической активности) [8, 9]. Некоторые авторы даже называют теломеру «молекулярными часами», определяющими время жизни клеток [10].

В экспериментальных и клинических работах получены данные о том, что длина лимфоцитарных теломер в лейкоцитах отражает длину теломер в стволовых клетках и соответствуют длине теломер в эндотелиальных прогениторных клетках, что позволяет рассматривать данный параметр как биомаркер старения сосудов. Поэтому измерение длины теломер в легкодоступных тканях — таких как кровь может служить в качестве суррогатного параметра для определения относительной длины теломер в других тканях [11]. Длина и скорость укорочения теломер — генетически детерминированные параметры, однако их изменение происходит и под влиянием внешних факторов [12].

В настоящее время получены первые данные, что для СД2 и нарушенной толерантности к глюкозе характерно ускоренное укорочение длины лимфоцитарных теломер [13, 14]. Это может быть связано как с нарушением секреции инсулина, так и с развитием ИР. По данным некоторых исследований, длина теломер лимфоцитов может считаться маркером прогрессии СД и его осложнений [15]. Короткие теломеры были выявлены у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе в сравнении со здоровыми пациентами, но еще более короткие теломеры наблюдались при СД2 [16]. Существуют данные, позволяющие судить о связи укорочения лимфоцитарных теломер с развитием СД2, ССЗ и с процессами сосудистого старения [17]. Эти наблюдения указывают на существенную роль СД2 в процессах репликативного клеточного старения.

Тем не менее, несмотря на очевидные научные достижения в области сосудистого старения, в настоящее время

остается множество нерешенных вопросов. Клинических публикаций, посвященных изучению процессов клеточного старения у пациентов с СД, явно недостаточно. Эти работы выполнены в основном в экспериментах на животных и в культурах клеток. Особый интерес представляет изучение взаимосвязей ускоренных изменений структуры и функции сосудистой стенки и процессов репликативного старения у больных СД2. Недостаточно изучена связь выраженности окислительного стресса, хронического воспаления, ИР и нарушений углеводного обмена с биологией теломер и возраст-ассоциированными изменениями сосудов.

Учитывая неуклонное старение населения, распространенность СД2 и ССЗ в пожилом возрасте, недостаточное понимание процессов старения у пациентов с СД и отсутствие эффективных методов воздействия на них, актуальным представляется изучение патогенеза изменений сердечно-сосудистой системы у больных СД2.

Цель

Изучить изменения структуры и функции артерий в зависимости от длины теломер периферических лимфоцитов и наличия СД2.

Материалы и методы

В одномоментное исследование были включены пациенты, прошедшие амбулаторное обследование в ФГБУ «ГНИЦПМ» в 2012–2013 гг. Основную группу исследования составили пациенты с СД2, с длительностью заболевания не более 12 месяцев после установки диагноза и содержанием гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) от 6,5% до 9,0% в возрасте от 45 до 75 лет. В группу контроля включали пациентов без СД2, не имеющих клинических проявлений ССЗ, обратившихся в центр для профилактического консультирования.

Критерии исключения: СД1 и другие специфические типы СД, АГ 3 степени ($AD > 180/100$ мм рт.ст.), регулярный прием гипотензивных препаратов, регулярный прием сахароснижающих препаратов с достижением целевых показателей HbA_{1c} , тяжелые диабетические микроангиопатии (препролиферативная и пролиферативная диабетическая ретинопатия, хроническая болезнь почек (ХБП) 3б, 4 и 5 стадии), наличие ССЗ: хроническая сердечная недостаточность II–IV классов (NYHA), наличие клапанных пороков сердца; хронической печеночной и почечной недостаточности, онкологических заболеваний, беременности, период лактации, отказ от участия в исследовании.

Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России. Протокол заседания ЛЭК № 8 от 29 ноября 2011 г.

На этапе скрининга всем пациентам проводилось стандартное клиническое обследование: сбор анамнеза, клинический осмотр, в том числе измерение веса и роста с расчетом индекса массы тела (ИМТ), измерение систо-

лического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) на калиброванном приборе с использованием плечевой манжеты (HEM-7200 M3, OmronHealthcare, Kyoto, Japan). АД измеряли после 10-минутного отдыха на правой руке в положении сидя 3 раза через 2 мин., в анализ включали среднее из 3 измерений. Артериальную гипертензию (АГ) диагностировали при $AD \geq 140/90$ мм рт.ст. Участникам проводили забор крови для лабораторных анализов (клинический и биохимический), регистрацию ЭКГ и пробу с физической нагрузкой (тредмил-тест по протоколу BRUCE (Intertrack, SCHILLER)). Лица с отклонениями в анализах крови, нарушениями ритма и проводимости сердца по данным ЭКГ и положительной пробой с физической нагрузкой считались не соответствующими критериям включения в исследование.

Из 158 пациентов, прошедших скрининг, 99 соответствовали критериям включения. Всем участникам исследования была выполнена оценка углеводного обмена, дуплексное сканирование сонных артерий с определением ТКИМ и наличия атеросклеротических бляшек, измерение каротидно-фemorальной СРПВ и измерение длины теломер.

Оценка углеводного обмена

Для оценки углеводного обмена исследовали концентрацию глюкозы плазмы глюкозооксидазным методом на анализаторе SAPPHIRE-400 с использованием диагностических наборов DiaSys. Содержание HbA_{1c} методом жидкостной хроматографии на анализаторе Sapphire 400 (Niigata Mechatronics, Япония) проводилось по стандартной методике производителя.

Измерение длины теломер

Для изучения биологии теломер проводилось измерение относительной длины теломер периферических лимфоцитов на геномной ДНК. Методика определения основана на работе Sawthon R.M. с некоторыми модификациями [18]. В ходе анализа методом ПЦР в реальном времени оценивалось количество ДНК с теломерной последовательностью в геноме. Параллельно проводилась ПЦР в реальном времени к однокопийному участку геномной ДНК. Считалось, что отношение количеств теломерной и однокопийной матриц пропорционально длине лимфоцитарных теломер.

Измерение жесткости артериальной стенки

Для оценки состояния сосудистой стенки проводилось измерение каротидно-фemorальной СРПВ с помощью прибора SphygmoCor (AtCorMedical, Австралия) методом аппланационной тонометрии. Пульсовые волны регистрировались последовательно высокоточным аппланационным тонометром, который накладывался на проксимальную (сонную) и с коротким промежутком на дистальную (бедренную) артерии, при этом одновременно регистрировалась ЭКГ и измерялось центральное АД, систолическое и диастолическое. СРПВ вычислялась с использованием времени прохождения волны между точками регистрации, определяемого с помощью зубца R

на ЭКГ. Для этого определялось время между зубцом R на ЭКГ и возникновением пульсации. Повышенной СРПВ считалось значение >12 м/с [1].

Оценка ТКИМ и субклинического атеросклероза

Дуплексное сканирование экстракраниального отдела брахиоцефальных артерий проводилась в В-режиме при параллельной записи кривой ЭКГ с помощью специального приложения программы Q-LAB (Philips). Измерение толщины КИМ проводилось по задней стенке общей сонной артерии (ОСА). При сканировании ОСА датчик располагался по переднему и заднему краю *m. sternocleidomastoideus*. Сканирование проводили в 3 плоскостях (двух продольных и поперечной). Измерение толщины КИМ ОСА производилось на 1,5–2 см проксимальнее бифуркации по наиболее удаленной от датчика стенке артерии. При диагностическом сканировании КИМ ОСА, внутренней и наружной сонной артерии оценивали в месте максимального визуального утолщения. Структурная характеристика ТКИМ включала анализ экзогенности и оценку сохранности дифференцировки на слои. За условный эталон при определении экзогенности интимы принималась экзогенность окружающих сосуд тканей, меди и – экзогенность просвета сосуда. При оценке толщины КИМ ОСА использовали нормативы, предложенные экспертами Европейского общества по гипертонии и Европейского общества кардиологов (2003). В качестве нормы считали значения менее 0,9 мм; утолщение ТИМ – от 0,9 мм до 1,3 мм; критерием выраженного атеросклероза – диффузное утолщение ТИМ более 1,3 мм. Наличие атеросклеротических бляшек (АСБ) было идентифицировано как увеличение ТКИМ $>1,3$ мм для ОСА или как локальное увеличение ТКИМ на 0,5 мм или 50% от значения близлежащего участка ТКИМ. Бляшкой считали локальное утолщение слоя интима-медиа более 1,3 мм, стенозирующее просвет сосуда или не влияющее на его внутреннюю геометрию. Процент стеноза измерялся при поперечном сканировании ОСА как отношение площади атеросклеротической бляшки к общей площади сосуда. Использовался датчик высокого разрешения (7,5 МГц).

Статистический анализ

Статистический анализ был проведен с помощью пакета прикладных статистических программ SAS 9.1 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., США). Все полученные данные были введены в табличный процессор, после чего был проведен разведочный анализ данных на предмет выявления ошибок ввода и пропущенных значений. Для количественных параметров был проведен тест асимметрии и эксцесса, который выявил, что большинство количественных параметров соответствует нормальному распределению. Количественные данные представлены в виде средних значений и средних квадратичных отклонений (SD). Проводился сравнительный анализ независимых выборок. Средние значения клинических параметров сравнивались в двух группах с использованием одномоментного анализа для непрерывных переменных и критерия χ -квадрат для категориальных

переменных. Для частотных показателей применяли модифицированный *t*-критерий Стьюдента с учетом \arcsin -преобразования Фишера. Для выявления меры линейной связи между параметрами проводился корреляционный анализ (линейные корреляции Пирсона). Для выявления независимых взаимосвязей между параметрами использовались многомерные регрессионные уравнения и множественный линейный регрессионный анализ. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты

В исследование включены 99 пациентов (33 мужчины и 66 женщин), средний возраст которых составил $52,4 \pm 12,3$ лет. Пациенты были разделены на 2 группы: с СД2 – 50 пациентов и без СД2 – 49. Пациенты были сопоставимы по возрасту и полу. Количество мужчин/женщин в обеих группах статистически достоверно не различалось: 15 мужчин и 35 женщин (30/70%) в группе СД2 versus 17 мужчин и 32 женщины (33/67%) в группе без диабета ($p=0,77$). Средний возраст пациентов с СД2 составил $56 \pm 12,1$ лет, а в группе контроля – $53,47 \pm 11,91$ лет ($p=0,15$). Длительность СД2 составила $0,9 \pm 0,089$ лет. ИМТ в группе СД2 был достоверно выше, чем у здоровых лиц: $31,1 \pm 1,08$ versus $26,6 \pm 0,53$ кг/м² ($p=0,002$). Показатели САД и ДАД существенно не отличались в обеих исследуемых группах: САД/ДАД в группе СД2 составили $129,6 \pm 3,2/79,06 \pm 1,8$ мм рт.ст., а в группе контроля – $123,3 \pm 1,5/77,2 \pm 0,9$ мм рт.ст. ($p=0,06$ и $p=0,37$ соответственно). В сравнении со здоровыми лицами, в группе СД2 длина лимфоцитарных теломер оказалась существенно короче ($p=0,02$). В группе диабета концентрация глюкозы плазмы натощак (ГПН) ($p < 0,001$) и HbA_{1c} ($p < 0,001$) были достоверно выше, чем в группе сравнения.

Таблица 1

Основные клинические характеристики, результаты дуплексного сканирования сонных артерий, аппланационной тонометрии и длина теломер в исследуемых группах

Параметр	СД2 + (n=50)	СД2 – (n=49)	p
Возраст, годы	$56 \pm 12,1$	$53,47 \pm 11,91$	0,15
Мужчины, n/%	15/30	17/34	0,77
ИМТ, кг/м ²	$31,1 \pm 1,08$	$26,6 \pm 0,53$	0,002
САД, мм рт.ст.	$129,6 \pm 3,2$	$123,3 \pm 1,5$	0,06
ДАД, мм рт.ст.	$79,06 \pm 1,8$	$77,2 \pm 0,9$	0,37
Длительность СД2, годы	$0,9 \pm 0,089$		
HbA _{1c} , %	$7,2 \pm 0,6$	$5,09 \pm 0,05$	$<0,001$
ГПН, ммоль/л	$8,1 \pm 0,333,17$	$5,3 \pm 0,051,20$	$<0,001$
СРПВ, м/сек	$13,07 \pm 0,6$	$10,67 \pm 0,23$	$<0,001$
ТКИМ, мм	$0,88 \pm 0,02$	$0,74 \pm 0,01$	$<0,001$
Количество атеросклеротических бляшек	$1,3 \pm 0,2$	$0,84 \pm 0,1$	0,08
Относительная длина теломер	$9,53 \pm 0,1$	$9,86 \pm 0,1$	0,02

Сокращения: значения представлены в виде $M \pm \sigma$, ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, HbA_{1c} – гликированный гемоглобин, ГПН – глюкоза плазмы натощак.

Таблица 2

Характеристика показателей углеводного обмена, состояния сосудистой стенки и длины теломер в зависимости от наличия СД2

Параметр	СД2+ (n=50)		p	СД2- (n=49)		p
	«Длинные» теломеры (n=29)	«Короткие» теломеры (n=21)		«Длинные» теломеры (n=27)	«Короткие» теломеры (n=22)	
СРПВ, м/сек	10,50±0,1	15,08±1,31	<0,01	10,51±0,51	10,7±0,52	0,025
ТКИМ, мм	0,80±0,09	0,87±0,05	<0,01	0,73±0,03	0,78±0,13	0,04
Количество атеросклеротических бляшек	0,76±0,04	1,02±0,29	0,03	0,78±0,02	0,89±0,22	0,03
НbA _{1c} , %	7,44±0,8	7,04±0,37	<0,01	5,3±0,12	5,03±0,12	0,08
ГПН, ммоль/л	7,58±0,9	8,13±0,46	0,57	5,24±0,13	5,23±0,12	0,96

Таблица 3

Характеристика состояния сосудистой стенки в зависимости от относительной длины теломер

Параметр	СД2+ (n=50)		p	СД2- (n=49)		p
	«Длинные» теломеры (n=29)	«Короткие» теломеры (n=21)		«Длинные» теломеры (n=27)	«Короткие» теломеры (n=22)	
СРПВ, м/сек	10,50±0,1	10,51±0,51	0,91	15,08±1,31	10,7±0,52	<0,01
ТКИМ, мм	0,80±0,09	0,73±0,03	0,12	0,87±0,05	0,78±0,13	0,03
Количество атеросклеротических бляшек	0,76±0,04	0,78±0,02	0,97	1,02±0,29	0,89±0,22	0,04

У пациентов с СД2 состояние сосудистой стенки существенно отличалось от такового у лиц без диабета: отмечалась достоверно более высокая СРПВ ($p<0,001$), утолщенный КИМ ($p<0,001$). Количество атеросклеротических бляшек было больше в группе СД2, но не достоверно ($p=0,08$). Основные характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Далее все пациенты были разделены на две группы в зависимости от относительной длины теломер периферических лимфоцитов. Медиана длины теломер составила 9,75. Все пациенты со значением длины лимфоцитарных теломер ниже этого показателя были отнесены к группе «коротких» теломер, равные или выше данного значения – к группе «длинных» теломер.

В зависимости от длины теломер всем пациентам проводилось сравнение состояния сосудистой стенки и показателей углеводного обмена.

Оказалось, что выраженность субклинического атеросклероза и жесткость сосудов у пациентов с «короткими» теломерами выше, чем у пациентов с «длинными» теломерами – как у лиц с СД2, так и без диабета. И, напротив, у пациентов с СД2 и «длинными» теломерами показатели сосудистого старения были значимо меньше, чем у пациентов с диабетом и «короткими» теломерами: СРПВ

и ТКИМ в данной группе были достоверно ниже (в обоих случаях $p<0,01$), количество атеросклеротических бляшек существенно меньше ($p=0,03$) (табл. 2).

Обнаружено, что НbA_{1c} у пациентов с СД2 и короткими теломерами лимфоцитов был существенно выше, чем у лиц с СД2 и длинными теломерами. У пациентов с диабетом и «короткими» теломерами выявлены более высокие показатели СРПВ ($p<0,01$), ТКИМ ($p=0,03$) и большее количество атеросклеротических бляшек ($p=0,04$) в сравнении с пациентами без диабета и «короткими» теломерами. Как оказалось, в группе с «длинными» теломерами у лиц с СД2 показатели жесткости сосудов и субклинического атеросклероза не отличались от таковых в группе здоровых лиц: СРПВ и ТКИМ были сопоставимы у пациентов с диабетом и без ($p=0,91$ и $p=0,12$ соответственно), количество атеросклеротических бляшек достоверно не отличалось ($p=0,97$).

Результаты этого сравнения у пациентов с «длинными» и «короткими» лимфоцитарными теломерами представлены в табл. 3.

В табл. 4 представлены результаты корреляционного анализа связи СРПВ и толщины КИМ с другими параметрами для пациентов с СД2 и без СД2. В группе СД2 выявлена достоверная положительная корреляцион-

Таблица 4

Результаты корреляционного анализа (линейные корреляции Пирсона) связи СРПВ и ТКИМ с другими параметрами в исследуемых группах

Показатель	СД2+ (n=50)		СД2- (n=49)	
	СРПВ	ТКИМ	СРПВ	ТКИМ
Возраст	0,1953 $p=0,17$	0,3564 $p=0,1501$	0,3213 $p=0,001$	0,3644 $p=0,0001$
САД	0,2717 $p=0,003$	0,3231 $p=0,007$	0,3784 $p=0,0021$	0,3214 $p=0,0214$
ДАД	0,0983 $p=0,27502$	0,2196 $p=0,133$	0,01024 $p=0,2765$	0,0538 $p=0,4245$
ИМТ	0,3127 $p=0,001$	0,1731 $p=0,142$	0,0054 $p=0,8594$	0,02985 $p=0,4211$
ГПН	0,3621 $p=0,301$	0,2258 $p=0,0674$	0,1738 $p=0,1422$	0,1732 $p=0,1421$
НbA _{1c}	0,3526 $p=0,002$	0,1571 $p=0,0699$	0,1528 $p=0,152$	0,1635 $p=0,0672$
Длина теломер	-0,3564 $p=0,019$	-0,3184 $p=0,0278$	-0,3623 $p=0,0014$	0,1673 $p=0,0711$

Таблица 5

Результаты корреляционного анализа показателей углеводного обмена, состояния сосудистой стенки и длины теломер в группе пациентов с СД2		
Показатель	Длина теломер г	р
Возраст, годы	0,025	0,87
САД, мм рт.ст.	-0,03	0,84
ДАД, мм рт.ст.	0,12	0,5
ИМТ, кг/м ²	-0,02	0,85
ГПН, ммоль/л	-0,31	0,52
НbA _{1c} %	-0,31	0,03
СРПВ, м/с	-0,35	<0,01
ТКИМ, мм	-0,11	0,41
Количество атеросклеротических бляшек	-0,13	0,14

ная взаимосвязь СРПВ с САД, ИМТ, НbA_{1c} и достоверная отрицательная корреляционная взаимосвязь СРПВ и относительной длины теломер лимфоцитов. ТКИМ достоверно положительно коррелировала с САД и отрицательно коррелировала с относительной длиной теломер лимфоцитов.

В группе контроля выявлена достоверная положительная корреляционная взаимосвязь СРПВ с возрастом, САД, ИМТ и достоверная отрицательная корреляционная взаимосвязь СРПВ и относительной длины теломер лимфоцитов. ТКИМ достоверно положительно коррелировала с возрастом, САД.

При анализе относительной длины лимфоцитарных теломер в группе СД2 была выявлена обратная зависимость между этим показателем и НbA_{1c}, СРПВ, но не выявлено корреляций с возрастом, АД, статусом курения, ИМТ, ГПН, ТКИМ и наличием атеросклеротических бляшек (табл. 5).

В дальнейшем был проведен множественный линейный регрессионный анализ с взаимодействием факторов, где в качестве зависимой переменной использовалась относительная длина теломер периферических лимфоцитов, а возраст, СРПВ, ГПН и НbA_{1c} – как независимые переменные. В результате выявлено, что из всех указанных параметров независимо связаны с длиной лимфоцитарных теломер лишь СРПВ (обратная связь) и НbA_{1c} (прямая связь) (табл. 6).

Обсуждение

В нашем исследовании выявлено, что состояние сосудистой стенки значимо отличается от ее состояния у здоровых лиц и больных СД2. Полученные результаты вполне согласуются с данными других авторов и находят патофизиологическое обоснование [19, 20, 21]. Одним из возможных объяснений причин повышения жесткости сосудов при СД2 является накопление конечных продуктов гликирования (КПГ) [20], что ведет к образованию поперечных связей с молекулами коллагена в срединной оболочке сосудистой стенки, приводя к повышению ригидности коллагена и жесткости сосудистой стенки. А при наличии

Таблица 6

Множественный линейный регрессионный анализ зависимости длины теломер от возраста, показателей ГПН, НbA_{1c}, СРПВ как независимых переменных в группе пациентов с СД2

Параметр	B	Стандартная ошибка	P
Возраст, годы	0,029	0,530	0,85
СРПВ, м/с	-0,15	2,721	0,037
ГПН, ммоль/л	-0,02	0,537	0,98
НbA _{1c} %	0,067	0,841	0,036

еще и хронической гипергликемии на фоне СД гликирование белков и накопление КПГ усиливается, что в результате приводит к значительному увеличению жесткости сосудов и как следствие – к ускоренному процессу старения сосудистой стенки при диабете [19]. В данном исследовании эти механизмы подтверждаются наличием взаимосвязи между жесткостью артерий и основным показателем углеводного обмена – НbA_{1c}.

Результаты нашего исследования подтверждают, что у пациентов с СД2 длина теломер периферических лимфоцитов в среднем короче, чем у здоровых людей. Так, в работе Novatta L. и соавт. (2012) обнаружена подобная зависимость [16], хотя в европейском исследовании Sampson M. и соавт. (2006) не выявлено связи между укорочением теломер лимфоцитов и показателями углеводного обмена – возможно, по причине малого количества пациентов в исследовании [20]. В представленной работе нами выявлены не только достоверные различия НbA_{1c} у пациентов с СД2 и «длинными» и «короткими» теломерами, но и отрицательная взаимосвязь между длиной лимфоцитарных теломер и НbA_{1c}, что может указывать на повреждающее действие гипергликемии на показатели репликативного старения, однако данный факт еще требует уточнения на больших выборках.

Одним из важнейших результатов данной работы можно считать обнаружение независимой обратной связи между длиной теломер и СРПВ и независимой прямой связи между длиной теломер и НbA_{1c}. Иными словами, у пациентов с СД2 более короткие теломеры ассоциированы с более жесткими сосудами и с неудовлетворительным контролем диабета. Основной причиной укорочения лимфоцитарных теломер в течение жизни является окислительный стресс и все состояния, с ним связанные (курение, ожирение, ИР, хронический стресс). При наличии СД2 процесс укорочения длины теломер приобретает более выраженный характер, так как присоединяется еще и повреждающее действие хронической гипергликемии, накопления КПГ и др. Об этом свидетельствуют некоторые клинические работы, демонстрирующие высокую корреляцию скорости укорочения теломер лимфоцитов и наличия СД2 [6]. Возможно, именно укорочение теломер на фоне СД2 является важным механизмом старения сосудов и развития связанных с диабетом ССЗ, но эта гипотеза требует дальнейшего изучения и уточнения.

Еще одним важным результатом нашей работы является тот факт, что состояние сосудистой стенки у пациентов с СД2 и «длинными» лимфоцитарными теломерами значимо не отличалось от таковой у здоровых

лиц без диабета. Т.е. при небольшой длительности СД2 (в исследование были включены больные с установленной длительностью диабета менее 1 года) генетически обусловленная большая длина теломер защищала сосуды от ускоренного старения. И, напротив, у пациентов с СД2 и «короткими» лимфоцитарными теломерами, даже не взирая на условно короткую длительность СД, выраженность жесткости сосудов и субклинического атеросклероза была выше. При этом необходимо отметить, что пациенты с СД2 и без диабета были сравнимы по возрасту и по величине отношения САД/ДАД. Таким образом, влияние возраста и АД на длину теломер лимфоцитов было нивелировано. Иными словами, более короткие теломеры связаны с более жесткими сосудами, а более длинные теломеры связаны с более сохранной сосудистой стенкой.

Объяснение этому может быть следующее: в клинической практике длина теломер определяется в лимфоцитах, и по существу она отражает длину теломер в стволовых и прогениторных клетках. Эти клетки, участвуя в репарации повреждения и процессах дифференциации тканей, играют важную роль в поддержании тканевого гомеостаза, в том числе в стенке сосуда, обеспечивая сохранную эндотелиальную функцию. Но так как жесткость сосудов в большей степени определяется состоянием внеклеточного матрикса, возможно, существуют клетки и в матриксе, репликативная активность которых определяет сосудистую жесткость. Или, вероятно, более медленное укорочение теломер влияет на состояние матрикса не через репликативную активность.

Накапливается все больше доказательств тому, что укорочение теломер лимфоцитов является ключевым компонентом уменьшения резервов стволовых клеток и возраст-ассоциированной дегенерации тканей, в частности, повышения сосудистой жесткости [20]. Действительно факты установлены, но объяснение пока отсутствует.

Заключение

Взаимосвязь СД2 с процессами клеточного старения и выраженностью субклинических морфофункциональных изменений сосудистой стенки объясняет более высокую частоту развития ССЗ у лиц с СД2.

Предупреждение этих изменений может послужить основанием для профилактики ССЗ у больных СД 2, особенно у лиц с «короткими» теломерами периферических лимфоцитов.

Благодарности

Коллектив авторов благодарит Кругликову А.С., Плохову Е.В., Пыхтину В.С., Гомыранову Н.В., Выгодина В.А. ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Скворцова Д.А. Институт Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского ГБОУ ВПО МГУ им М.В. Ломоносова за помощь в проведении исследования.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование было проведено в рамках Государственного задания «Изучение молекулярных механизмов атерогенеза в целях разработки методов ранней диагностики доклинического атеросклероза как основного патофизиологического механизма развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений».

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведением настоящего исследования и публикацией статьи.

Список литературы

1. Nilsson PM, Boutouyrie P, Cunha P, Kotsis V, Narkiewicz K, Parati G, et al. Early vascular ageing in translation: from laboratory investigations to clinical applications in cardiovascular prevention. *J Hypertens.* 2013;31(8):1517–1526. doi: 10.1097/HJH.0b013e328361e4bd
2. Стражеско ИД, Акашева ДУ, Дудинская ЕН, Ткачева ОН. Старение сосудов: основные признаки и механизмы. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2012;11(4):93–100. [Strazhesko ID, Akasheva DU, Dudinskaya EN, Tkacheva ON. Vascular ageing: main symptoms and mechanisms. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2012;11(4):93–100.]
3. Scuteri A, Najjar SS, Muller DC, Andres R, Hougaku H, Metter EJ, et al. Metabolic syndrome amplifies the age-associated increases in vascular thickness and stiffness. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(8):1388–1395. doi: 10.1016/j.jacc.2003.10.061
4. Facchini FS, Hua N, Abbasi F, Reaven GM. Insulin resistance as a predictor of age-related diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(8):3574–3578. doi: 10.1210/jcem.86.8.7763
5. Lilitkarntakul P, Dhaun N, Melville V, Kerr D, Webb DJ, Goddard J. Risk factors for metabolic syndrome independently predict arterial stiffness and endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease and minimal comorbidity. *Diabetes Care.* 2012;35(8):1774–80. doi: 10.2337/dc11-2345
6. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, Chen W, Kimura M, Lu X, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. *Circulation.* 2005;111(17):2171–2177. doi: 10.1161/01.CIR.0000163550.70487.0B
7. Бойцов СА, Стражеско ИД, Акашева ДУ, Дудинская ЕН, Кругликова АС, Ткачева ОН. Инсулинорезистентность: благо или зло? Механизмы развития и связь с возраст-ассоциированными изменениями сосудов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2013;12(4):91–97. [Boyctsov SA, Strazhesko ID, Akasheva DU, Dudinskaya EN, Kruglikova AS, Tkacheva ON. Insulin resistance: good or bad? Development mechanisms and the association with age-related vascular changes. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2013;12(4):91–97.]
8. Samani NJ, Boulby R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. Telomere shortening in atherosclerosis. *The Lancet.* 2001;358(9280):472–473. doi: 10.1016/S0140-6736(01)05633-1

9. Benetos A, Gardner JP, Zureik M, Labat C, Xiaobin L, Adamopoulos C, et al. Short telomeres are associated with increased carotid atherosclerosis in hypertensive subjects. *Hypertension*. 2004;43(2):182–185. doi: 10.1161/01.HYP.0000113081.42868.f4
10. Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med*. 2006;12(10):1133–1138. doi: 10.1038/nm1006-1133
11. Daniali L, Benetos A, Susser E, Kark JD, Labat C, Kimura M, et al. Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nat Commun*. 2013;4:1597. doi: 10.1038/ncomms2602
12. Aviv A. Telomeres and human aging: facts and fibs. *Sci Aging Knowledge Environ*. 2004;2004(51):pe43. doi: 10.1126/sageke.2004.51.pe43
13. Murillo-Ortiz B, Albarrán-Tamayo F, Arenas-Aranda D, Benítez-Bribiesca L, Malacara-Hernández JM, Martínez-Garza S, et al. Telomere length and type 2 diabetes in males: a premature aging syndrome. *Aging Male*. 2012;15(1):54–58. doi: 10.3109/13685538.2011.593658
14. Mulder H. Is shortening of telomeres the missing link between aging and the Type 2 Diabetes epidemic? *Aging (Albany NY)*. 2010;2(10):634–636.
15. Jeanclos E, Krolewski A, Skurnick J, Kimura M, Aviv H, Warram JH, et al. Shortened telomere length in white blood cells of patients with IDDM. *Diabetes*. 1998;47(3):482–286. doi: 10.2337/diabetes.47.3.482
16. Hovatta I, de Mello VD, Kananen L, Lindström J, Eriksson JG, Ilanne-Parikka P, et al. Leukocyte telomere length in the Finnish Diabetes Prevention Study. *PLoS ONE*. 2012;7(4):e34948. doi: 10.1371/journal.pone.0034948
17. Shah AS, Dolan LM, Kimball TR, Gao Z, Khoury PR, Daniels SR, et al. Influence of duration of diabetes, glycemic control, and traditional cardiovascular risk factors on early atherosclerotic vascular changes in adolescents and young adults with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):3740–3745. doi: 10.1210/jc.2008-2039
18. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(10):e47. doi: 10.1093/nar/30.10.e47
19. Sell DR, Monnier VM. Molecular basis of arterial stiffening: role of glycation – a mini-review. *Gerontology*. 2012;58(3):227–237. doi: 10.1159/000334668
20. Sharpless NE, DePinho RA. How stem cells age and why this makes us grow old. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(9):703–713. doi: 10.1038/nrm2241

Дудинская Екатерина Наильевна

к.м.н., в.н.с. отдела изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация
E-mail: katharina.gin@gmail.com

Ткачева Ольга Николаевна

д.м.н., профессор, руководитель отдела изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Шестакова Марина Владимировна

член-корр. РАН, директор Института диабета ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва; проф., зав. кафедры эндокринологии и диабетологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

Браилова Наталия Васильевна

м.н.с. отдела изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Стражеско Ирина Дмитриевна

к.м.н., в.н.с. отдела изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Акашева Дарига Уайдинична

к.м.н., в.н.с. отдела изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Исайкина Олеся Юрьевна

с.н.с. отдела первичной профилактики хронических неинфекционных заболеваний в системе здравоохранения, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Покровская Мария Сергеевна

к.б.н., с.н.с. отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Шарашкина Наталья Викторовна

к.м.н., с.н.с. отдела изучения процессов старения и профилактики возраст-ассоциированных заболеваний ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

Бойцов Сергей Анатольевич

д.м.н., профессор, руководитель отдела кардиологии и молекулярной генетики, директор ФГБУ Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, Москва, Российская Федерация