

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА СТАРЕНИЯ У МУЖЧИН ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРА РОССИИ¹

*Л.Б. Ким**, *П.М. Кожин**, *А.Н. Путятин**

*Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины (г. Новосибирск)

При изучении процесса старения выявляемые структурно-функциональные сдвиги связывают с календарным (паспортным, хронологическим) возрастом, который не всегда отражает общее состояние здоровья. В Арктике физиологическое старение человека и адаптация к климатогеографическим факторам в комплексе с факторами промышленного производства – одновременно протекающие процессы, которые могут оказывать совокупное влияние на организм человека. Известно огромное число маркеров старения, однако в клинических исследованиях чаще оценивают биологический возраст, рассматривая его как показатель общего состояния здоровья, способности адаптации к экстремальным воздействиям, степени старения человека. Имеющиеся противоречивые результаты оценки биологического возраста у жителей Российской Арктики указывают на необходимость поиска новых информативных маркеров старения. Впервые с этой целью была изучена методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени экспрессия молекулярного биомаркера старения p16^{INK4A}, известного как циклин-зависимый ингибитор киназы CDKN2A, который принимает участие в регуляции клеточного цикла, замедляя переход от G1- к S-фазе. Показано усиление экспрессии биомаркера у мужчин, живущих и работающих на Европейском Севере России. Интенсивность экспрессии маркера зависела от возраста и полярного стажа обследованных северян. Она оказалась выше у лиц старше 40 лет и лиц с полярным стажем более 20 лет. Биомаркер старения p16^{INK4A} положительно коррелировал с календарным и биологическим возрастом северян. Таким образом, он может быть использован как биомаркер преждевременного старения человека в Российской Арктике.

Ключевые слова: Арктика, Европейский Север России, полярный стаж, старение, календарный возраст, биологический возраст, биомаркер старения p16^{INK4A}.

¹Исследование проведено при поддержке президиума РАН по программе фундаментальных исследований «Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны Российской Федерации» (координатор программы – академик РАН А.И. Ханчук). При выполнении работы использовалось оборудование ЦКП «Современные оптические системы» НИИ экспериментальной и клинической медицины. Авторы выражают искреннюю благодарность за бесценную помощь в организации и проведении исследования заместителю директора по научным вопросам Научно-исследовательского центра медико-биологических проблем адаптации человека в Арктике Кольского научного центра РАН (г. Апатиты, Мурманская область), доктору биологических наук Н.К. Белишевой и главному врачу Ловозерской ЦРБ (п. Ревда, Мурманская область) О.Б. Цыпышевой.

Ответственный за переписку: Ким Лена Борисовна, адрес: 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2; e-mail: lenkim@centercem.ru

Для цитирования: Ким Л.Б., Кожин П.М., Путятин А.Н. Исследование молекулярного маркера старения у мужчин Европейского Севера России // Журн. мед.-биол. исследований. 2017. Т. 5, № 3. С. 70–78. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.70

Процесс старения – сложное, закономерное явление, сопровождающееся многими функциональными сдвигами в органах и системах, по мере накопления которых и снижения компенсаторных возможностей организма формируются нарушения всех видов обмена, структурные изменения, развиваются возраст-связанные заболевания. При изучении процесса старения выявляемые сдвиги связывают с календарным (паспортным, хронологическим) возрастом (КВ), который не всегда отражает общее состояние здоровья.

В научной литературе описано огромное число биомаркеров старения, характеризующих разные уровни организации: системный, органный, клеточный, молекулярный, хромосомный [1]. Наиболее часто в клинических исследованиях оценивают биологический возраст (БВ) [2]. Считают, что БВ отражает истинное общее состояние здоровья, экологическое благополучие, способность адаптироваться к экстремальным воздействиям, скорость и степень старения человека.

В разные периоды онтогенеза интенсивность возрастных изменений и адаптивных процессов может сильно варьировать или одни могут преобладать над другими. У жителей Арктики наряду с возрастными изменениями происходит дополнительное напряжение функциональных систем организма, которое обеспечивает развитие адаптивных механизмов в ответ на действие комплекса суровых климато-географических и экологических факторов, особенностей фотопериодики, нарастающего парникового эффекта.

Немногочисленные результаты оценки БВ у жителей Российской Арктики оказались противоречивыми. В зависимости от используемых методов БВ у северян отличался от КВ [3, 4] или соответствовал ему [5]. Таким образом, появилась необходимость поиска информативного биомаркера старения, который бы отражал изменения, связанные как с возрастными, так и с адаптивными процессами, т. е. имел бы связь с полярным стажем, географической широтой.

В последние годы при изучении процесса старения прибегают к оценке отдельных метаболитов [6, 7], измерению длины теломер и уровня экспрессии биомаркеров повреждения ДНК [8, 9]. Несколько чаще используют другой маркер – супрессор опухолей p16^{INK4A} [10–12], который отражает как старение отдельных клеток, так и БВ организма в целом [13, 14]. Можно полагать, что исследование современного молекулярного маркера p16^{INK4A} расширит представление о процессе старения у северян.

Цель данной работы – определить уровень экспрессии биомаркера старения p16^{INK4A} у жителей Европейского Севера России.

Материалы и методы. Исследование выполнено в период становления полярной ночи (ноябрь–декабрь) в рабочем поселке Ревда Ловозерского района Мурманской области (67°56'13" с. ш. и 34°33'33" в. д.) с участием 86 мужчин – горнорабочих в возрасте 19–69 лет (основная группа). После подписания информированного согласия испытуемые заполняли анкеты для определения БВ, сдавали кровь из вены. Средний возраст мужчин составил (44,4±1,4) года, средний полярный стаж – (20,0±1,4) лет. Для сопоставления полученных результатов у северян сформировали группу сравнения из 14 практически здоровых мужчин – жителей Западной Сибири (55°01'00" с. ш. и 82°55'00" в. д.), средний возраст – (42,9±3,4) года.

Для определения уровня относительной экспрессии молекулярного маркера старения p16^{INK4A} у 22 мужчин забирали 9 мл венозной крови в вакутейнеры, содержащие ЭДТА. Первичную обработку крови проводили в ЦКП Научно-исследовательского центра медико-биологических проблем адаптации человека в Арктике Кольского научного центра РАН, г. Апатиты Мурманской области (директор – Мегорский В.В., кандидат медицинских наук). Кровь фракционировали центрифугированием при 1500g в течение 15 мин (Sigma 2-16P, Германия). Промежуточный слой лейкоцитов объемом < 0,5 мл переносили в 1,2 мл RNAlater (Life Technologies, США) и замораживали при –70 °С. Тотальную РНК выделяли с использованием TRIzol Reagent (Life

Technologies, США) согласно инструкции. Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию с использованием набора реагентов iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad Laboratories, США) согласно инструкции. Изменения экспрессии мРНК гена CDKN2A исследовали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) с использованием коммерческих праймеров Hs00923894_m1 (Life Technologies, США). Уровень экспрессии мРНК генов нормировали относительно референсного гена АСТВ. Уровень экспрессии рассчитывали согласно методу М. Pfaffl [15].

Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica v. 10 (StatSoft Inc., США). Для сравнения двух групп применяли U-критерий Манна–Уитни. Исследование связей между признаками осуществляли с помощью расчета коэффициента ранговой корреляции по Спирмену. Результаты представлены в виде $M \pm m$. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,050$.

Результаты. В основной группе у северян экспрессия $p16^{INK4A}$ в лейкоцитах была увеличена в 8 раз ($p = 0,004$) относительно данных в группе сравнения (рис. 1).

Учитывая привязанность маркера к возрасту, провели сравнение групп обследованных мужчин до 40 и старше 40 лет. Если в группе сравнения значимого различия в уровне экспрессии не отмечено, то в основной группе у мужчин старше 40 лет он оказался выше в 5 раз ($p = 0,050$) относительно данных группы до 40 лет (рис. 2).

Поскольку с увеличением полярного стажа риск развития дизадаптивных расстройств возрастает, важно было оценить уровень экспрессии $p16^{INK4A}$ у лиц с различным сроком проживания на Европейском Севере. Оказалось, что у северян с полярным стажем более 20 лет уровень экспрессии маркера был в 4,5 раза выше ($p = 0,040$), чем в группе северян с полярным стажем менее 20 лет (рис. 3).

Таким образом, для жителей Европейского Севера России характерна гиперэкспрессия маркера старения $p16^{INK4A}$, которая имеет связь с КВ и полярным стажем, временными факторами, определяющими состояние здоровья человека и его БВ.

Обсуждение. В данной работе показана связь КВ с уровнем экспрессии биомаркера $p16^{INK4A}$, оцененного в лейкоцитах. При изучении уровня экспрессии данного маркера у здоровых людей в возрасте 18–80 лет в разных клеточных фракциях

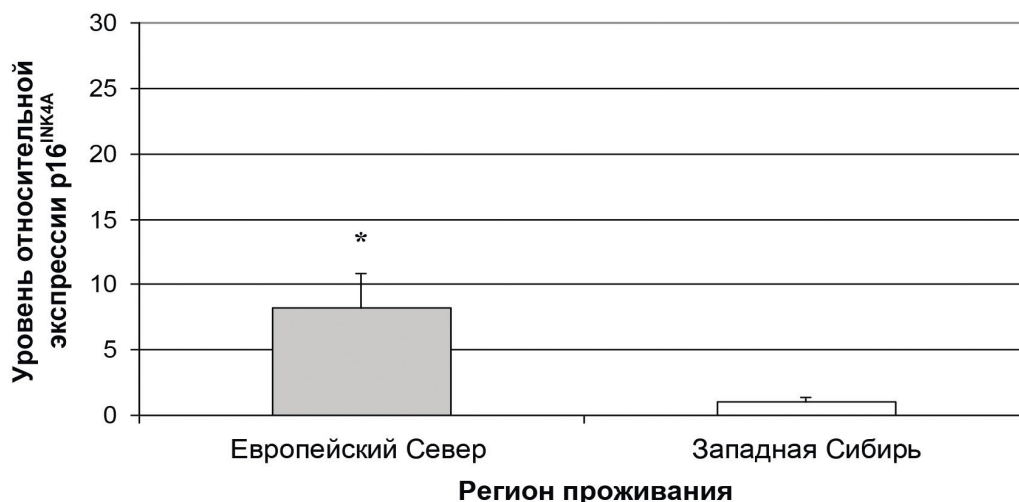


Рис. 1. Уровень относительной экспрессии $p16^{INK4A}$ в лейкоцитах у практически здоровых мужчин в зависимости от региона проживания (* – значимость отличий от показателей мужчин Западной Сибири $p < 0,05$)

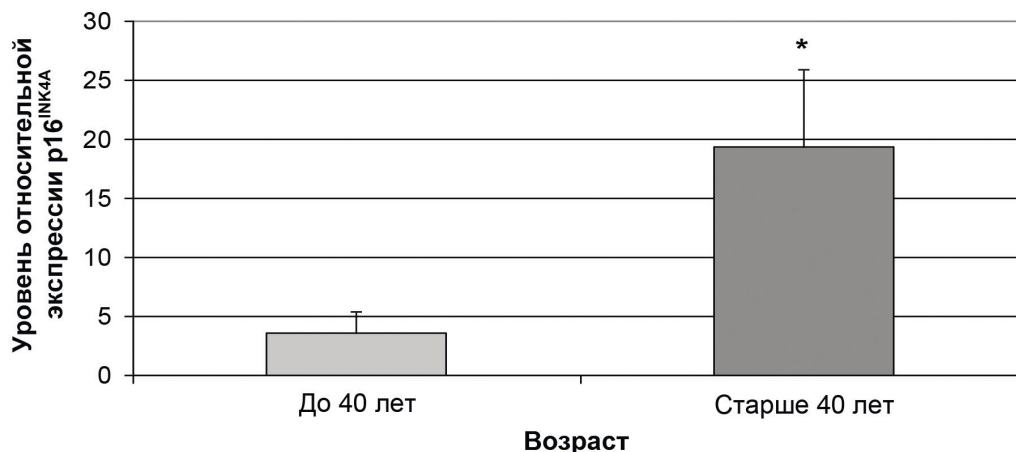


Рис. 2. Уровень относительной экспрессии p16^{INK4A} в лейкоцитах у практически здоровых мужчин на Европейском Севере России в зависимости от возраста (* – значимость отличий от показателей группы мужчин до 40 лет $p < 0,05$)

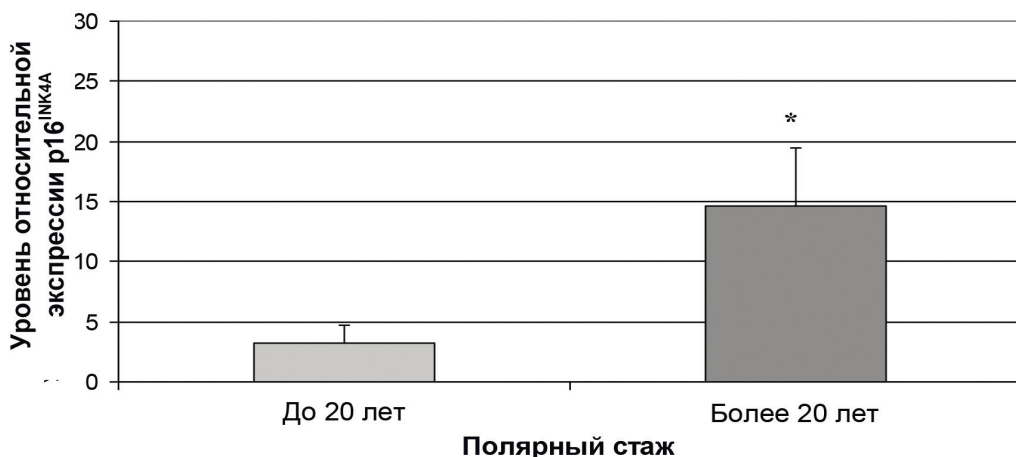


Рис. 3. Уровень относительной экспрессии p16^{INK4A} в лейкоцитах у практически здоровых мужчин на Европейском Севере России в зависимости от полярного стажа (* – значимость отличий от показателей мужчин с полярным стажем до 20 лет $p < 0,05$)

(Т-клетки, В-клетки, моноциты, НК-клетки и гранулоциты) отмечена максимально высокая экспрессия в CD⁺3 Т-клеток, а также обнаружена положительная корреляция уровня экспрессии с КВ [10]. Кроме того, авторы показали, что гиперэкспрессии биомаркера p16^{INK4A} способствовали курение, недостаточная физическая активность и ожирение. Общеизвестно, что все эти факторы относятся к модифицируемым

факторам кардиоваскулярного риска. На основании выявленной корреляции между биомаркером и ожирением авторы допускают, что, ограничивая калорийность питания, можно замедлить процесс старения. Наряду с этим можно полагать, что, сокращая влияние других факторов риска путем отказа от курения и увеличения физической активности, можно управлять скоростью старения.

Есть данные о возрастной зависимости экспрессии маркера p16^{INK4A}, полученные при обследовании лиц с момента рождения до глубокой старости (0–20, 21–70 и 71–95 лет) [16]. При исследовании кожи людей методом иммуногистохимии было выявлено, что число положительных по p16^{INK4A} клеток значительно выше в группе пожилых лиц по сравнению с молодыми. Уровень относительной экспрессии p16^{INK4A}, вычисленный по количеству позитивных клеток и интенсивности окрашивания, в группе лиц с КВ от 21 до 70 лет был выше в 2,5 раза, в группе лиц от 71 до 95 лет – более чем в 7 раз относительно данных возрастной группы с КВ до 20 лет [16].

В другом исследовании при сравнении людей, рожденных в семьях долгожителей и в не относящихся к таким семьям, имеющих аналогичный возраст и одинаковые экологические характеристики среды проживания, показана взаимосвязь биомаркера старения p16^{INK4A} с БВ [14]. Оказалось, что число p16^{INK4A}-позитивных клеток в 2 раза ниже у потомков долгожителей. В эпидермальных клетках уровень экспрессии маркера положительно коррелировал с частотой диагностированных сердечно-сосудистых заболеваний ($p = 0,02$) и количеством принимаемых лекарств ($p = 0,02$), расцениваемых как показатели БВ.

В нашем исследовании была обнаружена связь не только с БВ, но и с качеством жизни. Так, корреляционный анализ продемонстрировал наличие прямой корреляции средней силы между маркером p16^{INK4A} и БВ ($r = 0,52$, $p = 0,043$), отрицательной корреляции между p16^{INK4A} и показателями качества жизни по шкалам «жизнеспособность» ($r = -0,66$, $p = 0,006$) и «социальное функционирование» ($r = -0,54$, $p = 0,028$) [4].

Кроме того, в этом исследовании получил подтверждение вывод о связи маркера с ожирением, как было показано Y. Liu с соавторами [10]. Корреляционный анализ выявил у северян прямую корреляцию средней силы ($r = 0,63$, $p = 0,016$) между биомаркером p16^{INK4A} и отношением окружности талии к окружности бедер. О возможном влиянии половых гормо-

нов (тестостерон и ДГЭА-С) у мужчин на процесс старения в Арктике можно судить по отрицательной корреляции их содержания с КВ и БВ [17], а также между ДГЭА-С и маркером p16^{INK4A} ($r = -0,72$, $p = 0,004$).

В Арктике предпосылкой для гиперэкспрессии p16^{INK4A} может быть не только воздействие неблагоприятных факторов образа жизни, таких как курение, гиподинамия, ожирение, но и влияние климатогеографических факторов. Сочетание холода, специфического фотопериодизма, высокой скорости ветра и т. д. вызывает напряжение многих функциональных систем организма [18–20] и развитие сложного по механизму варианта гипоксии, получившего название «северная тканевая гипоксия» [20]. Кумулятивный эффект действия этих факторов, безусловно, отражается на скорости возрастных изменений и эффективности адаптивных процессов.

Наличие прямой корреляционной связи между БВ и уровнем экспрессии p16^{INK4A} можно рассматривать как отражение преждевременного старения человека на Европейском Севере России. К проявлениям этого феномена уместно отнести снижение резервных и адаптивных возможностей функциональной системы дыхания на физиологическом, клеточном и тканевом уровнях с увеличением полярного стажа [20], раннее развитие основных возраст-связанных заболеваний [21], а также – наметившуюся в арктических районах и приравненных к ним местностях тенденцию сокращения численности населения. Известно, что в настоящее время в регионе проживает 10 млн человек, в результате массового оттока численность населения снизилась более чем в 2 раза по сравнению с данными переписи 1989 года [22]. В Арктике показатели ожидаемой продолжительности жизни ниже среднероссийских и, наоборот, показатели смертности от внешних причин и социальных болезней – выше [23].

Таким образом, впервые выполненное исследование у 22 мужчин – жителей Европейского Севера России молекулярного маркера старения p16^{INK4A}, принимающего участие в регуляции клеточного цикла, продемонстрировало усиление его экспрессии. Интенсивность экспрессии

зависела от возраста (выше у лиц старше 40 лет) и полярного стажа (выше у лиц с полярным стажем более 20 лет). Биомаркер старения p16^{INK4A} положительно коррелировал с КВ и БВ северян, поэтому он может быть предложен для использования в качестве биомаркера преждевременного старения человека в Арктике.

Несмотря на то, что результаты получены на ограниченном контингенте северян, они указывают на необходимость учета феномена преждевременного старения при реализации утвержденной государственной программы Российской Федерации «Социально-экономическое развитие Арктической зоны Российской Федерации на период до 2020 года» (постановление Правительства РФ от 21.04.2014 № 366), которая предполагает обязательное массовое привлечение рабочих из других регионов. Проблема сохранения здоровья приезжающих в новые климатогеографические условия Арктики работников приобретает особую значимость из-за масштабности проводимых экономических преобразований и требует разработки мер первичной профилактики возраст-связанных заболеваний у северян с учетом новых знаний. В экономическом освоении Арктики принимают

участие не только жители средних широт. В последние годы все чаще привлекаются рабочие из южных регионов и стран СНГ. Физиологическое старение организма может модулироваться развитием адаптивных механизмов на действие климато-географических арктических факторов в комплексе с факторами урбанизации, что может привести к ускоренному старению и раннему развитию возраст-связанных болезней.

В настоящее время необходимо формировать программу профилактики преждевременного старения, и начинать ее реализацию следует в молодом возрасте [1]. Это положение в первую очередь относится к северянам, у которых, как показано было нами ранее, индекс старения (отношение БВ к должному БВ) в возрастных группах до 29, 30–39 и 40–49 лет оказался выше 1, в группе 50–59 лет – равен 1, в группе 60–69 лет – меньше 1 [4].

В связи со сказанным считаем целесообразным продолжение настоящего исследования с расширением контингента обследованных лиц и перечня современных маркеров старения для более полного раскрытия феномена преждевременного старения человека в Арктике.

Список литературы

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб., 2008. Т. 2. 434 с.
2. Позднякова Н.М., Процаев К.И., Ильницкий А.Н., Павлова Т.В., Бащук В.В. Современные взгляды на возможности оценки биологического возраста в клинической практике // *Фундам. исследования*. 2011. № 2. С. 17–22.
3. Golubeva E.Yu., Danilova R.I. Characteristics of the Aging Rate Among Elderly People in the European North of Russia // *Adv. Gerontol.* 2012. Vol. 2, № 4. P. 292–295.
4. Kim L.B., Belisheva N.K., Putyatina A.N., Russkikh G.S., Kozhin P.M., Tsypysheva O.B. Quality of Life for Men of Different Ages in the European Russian North and Its Relationship with Self-Rated Health and Hormonal Status // *Adv. Gerontol.* 2016. Vol. 6, № 4. P. 343–351.
5. Плакуев А.Н., Хромова А.В., Катыхшева Л.В., Попов Д.С. Биологический возраст у молодых людей, проживающих в условиях Европейского Севера // *Экология человека*. 2006. № 11. С. 17–20.
6. Bae C.Y., Kang Y.G., Piao M.H., Cho B., Cho K.H., Park Y.K., Yu B.Y., Lee S.W., Kim M.J., Lee S.H., Kim Y.J., Kim D.H., Kim J.S., Oh J.E. Models for Estimating the Biological Age of Five Organs Using Clinical Biomarkers That Are Commonly Measured in Clinical Practice Settings // *Maturitas*. 2013. Vol. 75, № 3. P. 253–260.
7. Menni C., Kastenmüller G., Petersen A.K., Bell J.T., Psatha M., Tsai P.C., Gieger C., Schulz H., Erte I., John S., Brosnan M.J., Wilson S.G., Tsaprouni L., Lim E.M., Stuckey B., Deloukas P., Mohny R., Suhre K., Spector T.D., Valdes A.M. Metabolomic Markers Reveal Novel Pathways of Ageing and Early Development in Human Populations // *Int. J. Epidemiol.* 2013. Vol. 42, № 4. P. 1111–1119.

8. Song Z., von Figura G., Liu Y., Kraus J.M., Torrice C., Dillon P., Rudolph-Watabe M., Ju Z., Kestler H.A., Sanoff H., Lenhard Rudolph K. Lifestyle Impacts on the Aging-Associated Expression of Biomarkers of DNA Damage and Telomere Dysfunction in Human Blood // *Aging Cell*. 2010. Vol. 9, № 4. P. 607–615.
9. Lu Y.Y., Yang X., Chen W.Q., Ju Z.Y., Shou Z.F., Jin J., Zhang X.H., Chen J.H., Jiang H. Proteins Induced by Telomere Dysfunction Are Associated with Human IgA Nephropathy // *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2014. Vol. 15, № 6. P. 566–574.
10. Liu Y., Sanoff H.K., Cho H., Burd C.E., Torrice C., Ibrahim J.G., Thomas N.E., Sharpless N.E. Expression of p16^{INK4a} in Peripheral Blood T-Cells Is a Biomarker of Human Aging // *Aging Cell*. 2009. Vol. 8, № 4. P. 439–448.
11. Liu Y., Johnson S.M., Fedoriv Y., Rogers A.B., Yuan H., Krishnamurthy J., Sharpless N.E. Expression of p16^{INK4a} Prevents Cancer and Promotes Aging in Lymphocytes // *Blood*. 2011. Vol. 117, № 12. P. 3257–3267.
12. Signer R.A., Montecino-Rodriguez E., Witte O.N., Dorshkind K. Aging and Cancer Resistance in Lymphoid Progenitors Are Linked Processes Conferred by p16^{INK4a} and Arf // *Genes Dev*. 2008. Vol. 22, № 22. P. 3115–3120.
13. Vandenberg B., Brouwers B., Haise S., Wildiers H. p16^{INK4a}: A Central Player in Cellular Senescence and a Promising Aging Biomarker in Elderly Cancer Patients // *J. Geriatr. Oncol*. 2011. Vol. 2, № 4. P. 259–269.
14. Waaijer M.E., Parish W.E., Strongitharm B.H., van Heemst D., Slagboom P.E., de Craen A.J., Sedivy J.M., Westendorp R.G., Gunn D.A., Maier A.B. The Number of p16^{INK4a} Positive Cells in Human Skin Reflects Biological Age // *Aging Cell*. 2012. Vol. 11, № 4. P. 722–725.
15. Pfaffl M.W. A New Mathematical Model for Relative Quantification in Real-Time RT-PCR // *Nucleic Acids Res*. 2001. Vol. 29, № 9. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC55695> (дата обращения: 01.09.2017).
16. Ressler S., Bartkova J., Niederegger H., Bartek J., Scharffetter-Kochanek K., Jansen-Dürr P., Wlaschek M. p16^{INK4a} Is a Robust *in vivo* Biomarker of Cellular Aging in Human Skin // *Aging Cell*. 2006. Vol. 5, № 5. P. 379–389.
17. Kim L.B., Russkikh G.S., Gevorgian M.M., Putyatina A.N., Voronina N.P., Kozhin P.M., Kozaruk T.V., Tsypysheva O.B., Dolgova N.A., Rosumenko A.A. Sex Hormones and Cardiovascular Risk in Male Mining Workers Living in the European North // *Human Physiology*. 2016. Vol. 42, № 2. P. 195–202.
18. Грибанов А.В., Гудков А.Б., Попова О.Н., Крайнова И.Н. Кровообращение и дыхание у школьников в циркулярных условиях. Архангельск, 2016. 270 с.
19. Гудков А.Б., Лукманова Н.Б., Раменская Е.Б. Человек в приполярном регионе Европейского Севера. Эколого-физиологические аспекты. Архангельск, 2013. 181 с.
20. Ким Л.Б. Транспорт кислорода при адаптации человека к условиям Арктики и кардиореспираторной патологии. Новосибирск, 2015. 216 с.
21. Панин Л.Е. Фундаментальные проблемы приполярной и арктической медицины // *Бюл. Сиб. отд-ния РАМН*. 2013. Т. 33, № 6. С. 5–10.
22. Добродеева Л.К. Арктика и человек // *Вестн. Сев. (Арктич.) федер. ун-та. Сер.: Мед.-биол. науки*. 2014. № 3. С. 100–102.
23. Проблемы законодательного обеспечения реализации демографической политики государства в районах Крайнего Севера и приравненных к ним местностях: 30 ноября 2011 года. М., 2011. 168 с. URL: <http://council.gov.ru/media/files/41d44f244671b888a5a0.pdf> (дата обращения: 01.09.2017).

References

1. Anisimov V.N. *Molekulyarnye i fiziologicheskie mekhanizmy stareniya* [Molecular and Physiological Mechanisms of Ageing]. St. Petersburg, 2008. Vol. 2. 434 p.
2. Pozdnyakova N.M., Proshchaev K.I., Il'inskiy A.N., Pavlova T.V., Bashuk V.V. Sovremennye vzglyady na vozmozhnosti otsenki biologicheskogo vozrasta v klinicheskoy praktike [Current Views on the Possibility of Assessing the Biological Age in Clinical Practice]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2011, no. 2, pp. 17–22.
3. Golubeva E.Yu., Danilova R.I. Characteristics of the Aging Rate Among Elderly People in the European North of Russia. *Adv. Gerontol.*, 2012, vol. 2, no. 4, pp. 292–295.
4. Kim L.B., Belisheva N.K., Putyatina A.N., Russkikh G.S., Kozhin P.M., Tsypysheva O.B. Quality of Life for Men of Different Ages in the European Russian North and Its Relationship with Self-Rated Health and Hormonal Status. *Adv. Gerontol.*, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 343–351.
5. Plakuev A.N., Khromova A.V., Katysheva L.V., Popov D.S. Biologicheskiiy vozrast u molodykh lyudey, prozhivayushchikh v usloviyakh Evropeyskogo Severa [Biological Age of Young People Living in the Conditions of the European North]. *Ekologiya cheloveka*, 2006, no. 11, pp. 17–20.

6. Bae C.Y., Kang Y.G., Piao M.H., Cho B., Cho K.H., Park Y.K., Yu B.Y., Lee S.W., Kim M.J., Lee S.H., Kim Y.J., Kim D.H., Kim J.S., Oh J.E. Models for Estimating the Biological Age of Five Organs Using Clinical Biomarkers That Are Commonly Measured in Clinical Practice Settings. *Maturitas*, 2013, vol. 75, no. 3, pp. 253–260.
7. Menni C., Kastenmüller G., Petersen A.K., Bell J.T., Psatha M., Tsai P.C., Gieger C., Schulz H., Erte I., John S., Brosnan M.J., Wilson S.G., Tsaprouni L., Lim E.M., Stuckey B., Deloukas P., Mohnney R., Suhre K., Spector T.D., Valdes A.M. Metabolomic Markers Reveal Novel Pathways of Ageing and Early Development in Human Populations. *Int. J. Epidemiol.*, 2013, vol. 42, no. 4, pp. 1111–1119.
8. Song Z., von Figura G., Liu Y., Kraus J.M., Torrice C., Dillon P., Rudolph-Watabe M., Ju Z., Kestler H.A., Sanoff H., Lenhard Rudolph K. Lifestyle Impacts on the Aging-Associated Expression of Biomarkers of DNA Damage and Telomere Dysfunction in Human Blood. *Aging Cell*, 2010, vol. 9, no. 4, pp. 607–615.
9. Lu Y.Y., Yang X., Chen W.Q., Ju Z.Y., Shou Z.F., Jin J., Zhang X.H., Chen J.H., Jiang H. Proteins Induced by Telomere Dysfunction Are Associated with Human IgA Nephropathy. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, 2014, vol. 15, no. 6, pp. 566–574.
10. Liu Y., Sanoff H.K., Cho H., Burd C.E., Torrice C., Ibrahim J.G., Thomas N.E., Sharpless N.E. Expression of p16^{INK4a} in Peripheral Blood T-Cells Is a Biomarker of Human Aging. *Aging Cell*, 2009, vol. 8, no. 4, pp. 439–448.
11. Liu Y., Johnson S.M., Fedoriw Y., Rogers A.B., Yuan H., Krishnamurthy J., Sharpless N.E. Expression of p16^{INK4a} Prevents Cancer and Promotes Aging in Lymphocytes. *Blood*, 2011, vol. 117, no. 12, pp. 3257–3267.
12. Signer R.A., Montecino-Rodriguez E., Witte O.N., Dorshkind K. Aging and Cancer Resistance in Lymphoid Progenitors Are Linked Processes Conferred by p16^{INK4a} and Arf. *Genes Dev.*, 2008, vol. 22, no. 22, pp. 3115–3120.
13. Vandenberg B., Brouwers B., Hatse S., Wildiers H. p16^{INK4a}: A Central Player in Cellular Senescence and a Promising Aging Biomarker in Elderly Cancer Patients. *J. Geriatr. Oncol.*, 2011, vol. 2, no. 4, pp. 259–269.
14. Waaijer M.E., Parish W.E., Strongitharm B.H., van Heemst D., Slagboom P.E., de Craen A.J., Sedivy J.M., Westendorp R.G., Gunn D.A., Maier A.B. The Number of p16^{INK4a} Positive Cells in Human Skin Reflects Biological Age. *Aging Cell*, 2012, vol. 11, no. 4, p. 722–725.
15. Pfaffl M.W. A New Mathematical Model for Relative Quantification in Real-Time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, 2001, vol. 29, no. 9. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC55695> (accessed 1 September 2017).
16. Ressler S., Bartkova J., Niederegger H., Bartek J., Scharffetter-Kochanek K., Jansen-Dürr P., Wlaschek M. p16^{INK4A} Is a Robust *in vivo* Biomarker of Cellular Aging in Human Skin. *Aging Cell*, 2006, vol. 5, no. 5, pp. 379–389.
17. Kim L.B., Russkikh G.S., Gevorgian M.M., Putyatina A.N., Voronina N.P., Kozhin P.M., Kozaruk T.V., Tsypysheva O.B., Dolgova N.A., Rosumenko A.A. Sex Hormones and Cardiovascular Risk in Male Mining Workers Living in the European North. *Hum. Physiol.*, 2016, vol. 42, no. 2, pp. 195–202.
18. Gribanov A.V., Gudkov A.B., Popova O.N., Kraynova I.N. *Krovoobrashchenie i dykhanie u shkol'nikov v tsirkumpolyarnykh usloviyakh* [Blood Circulation and Respiration in Schoolchildren Living in Circumpolar Regions]. Arkhangelsk, 2016. 270 p.
19. Gudkov A.B., Lukmanova N.B., Ramenskaya E.B. *Chelovek v pripolyarnom regione Evropeyskogo Severa. Ekologo-fiziologicheskie aspekty* [Human in the Circumpolar Region of the European North: Ecological and Physiological Aspects]. Arkhangelsk, 2013. 181 p.
20. Kim L.B. *Transport kisloroda pri adaptatsii cheloveka k usloviyam Arktiki i kardiorespiratornoy patologii* [Oxygen Transport at Human Adaptation to the Arctic and Cardiorespiratory Disease]. Novosibirsk, 2015. 216 p.
21. Panin L.E. Fundamental'nye problemy pripolyarnoy i arkticheskoy meditsiny [Fundamental Problems of the Circumpolar and the Arctic Medicine]. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN*, 2013, vol. 33, no. 6, pp. 5–10.
22. Dobrodeeva L.K. Arktika i chelovek [The Arctic and Humans]. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Ser.: Mediko-biologicheskie nauki*, 2014, no. 3, pp. 100–102.
23. *Problemy zakonodatel'nogo obespecheniya realizatsii demograficheskoy politiki gosudarstva v rayonakh Kraynego Severa i priravnennykh k nim mestnostyakh: 30 noyabrya 2011 goda* [Problems of Legislative Support for the Implementation of the National Demographic Policy in the Areas of the Far North and Localities Equated Thereto: 30 November 2011]. Moscow, 2011. 168 p. Available at: <http://council.gov.ru/media/files/41d44f244671b888a5a0.pdf> (accessed 1 September 2017).

STUDY OF MOLECULAR MARKER OF AGEING IN MALE RESIDENTS OF THE EUROPEAN NORTH OF RUSSIA

When studying the ageing process, researchers tend to associate the revealed structural and functional shifts with the chronological (calendar, passport) age, which does not always reflect the general state of health. In the Arctic, human physiological ageing and adaptation to climatic and geographical factors in combination with factors of industrial production are simultaneous processes having joint impact on the human body. Today, a huge number of ageing markers is known. However, clinical trials more often assess the biological age, treating it as an indicator of the general state of health, adaptability to extreme exposures and degree of ageing. The existing contradictory results of the evaluation of the biological age of the people living in the Russian Arctic prove that new informative markers of ageing are required. This is the first time that the expression of p16^{INK4A} molecular biomarker of ageing using real-time polymerase chain reaction was studied for this purpose. This biomarker is known as cyclin-dependent kinase inhibitor CDKN2A, participating in the regulation of the cell cycle by slowing down the transition from G1- to S-phase. The paper revealed increased expression of this biomarker in men living and working in the European North of Russia. The intensity of expression depended on the age and duration of living in the North. It was higher in individuals older than 40 years and in those who had lived in the Arctic for more than 20 years. The p16^{INK4A} biomarker of ageing positively correlated with the chronological and biological age of northerners. Thus, it can be used as a biomarker of human premature ageing in the Russian Arctic.

Keywords: *Arctic, European North of Russia, duration of living in the Arctic, ageing, chronological age, biological age, p16^{INK4A} biomarker of ageing.*

Поступила 20.03.2017
Received 20 March 2017

Corresponding author: Lena Kim, *address:* ul. Timakova 2, Novosibirsk, 630117, Russian Federation; *e-mail:* lenkim@centercem.ru

For citation: Kim L.B., Kozhin P.M., Putyatina A.N. Study of Molecular Marker of Ageing in Male Residents of the European North of Russia. *Journal of Medical and Biological Research*, 2017, vol. 5, no. 3, pp. 70–78. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.70