

Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного  
профессионального образования  
«Центральная государственная медицинская академия»  
Управления делами Президента Российской Федерации

*На правах рукописи*

**Тхакушинов Ибрагим Аскарбиевич**

**ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ  
АУТОФАГИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫХ  
ПРОГРАММ У ЛИЦ РАЗНОЙ МАССЫ**

Специальность: 3.1.33. – Восстановительная медицина, спортивная медицина,  
лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки)

**ДИССЕРТАЦИЯ**

**на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Корчажкина Наталья Борисовна

Москва, 2023

<b>ОГЛАВЛЕНИЕ</b>	Стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	6
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	19
1.1. Аутофагия и ее физиологическая роль. Виды аутофагии.....	19
1.2. Аутофагия при нарушении физиологических функций организма.....	21
1.3. Аутофагия и ограничение калорийности питания.....	28
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> ....	36
2.1. Характеристика обследованных групп.....	36
2.2. Методы исследования.....	38
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	42
3.1. Характеристика показателей беклина-1 до- и после проведения комплексной оздоровительной программы (КОП) во всей обследованной группе.....	42
3.2. Результаты исследования активности беклина-1 после КОП и полной пищевой депривации.....	67
3.3. Результаты исследования активности аутофагии у мужчин до проведения комплексной оздоровительной программы.....	72
3.4. Исследование беклина-1 у мужчин после проведения комплексной оздоровительной программы.....	79
3.5. Исследование беклина-1 у женщин до проведения комплексной оздоровительной программы.....	83
3.6. Исследование беклина-1 у женщин после проведения комплексной оздоровительной программы.....	93
3.7. Анализ степени активности аутофагии до- и после проведения комплексной оздоровительной программы у женщин по показателям «дельта- беклин-1».....	97

3.8. Анализ степени активности аутофагии до- и после проведения комплексной оздоровительной программы у мужчин по показателям "дельта- беклин-1».....	103
<b>ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНДЕРНЫХ И ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ АКТИВНОСТИ АУТОФАГИИ В ИСХОДНОМ СОСТОЯНИИ И ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КОМПЛЕКСНОЙ ОЗДОРОВИТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ.....</b>	<b>107</b>
4.1. Сравнительный анализ показателей активности аутофагии у мужчин и женщин до проведения комплексной оздоровительной программы.....	107
4.2. Сравнение корреляционных связей у мужчин и женщин между активностью аутофагии и исследуемыми морфофизиологическими параметрами.....	112
4.3. Особенности процесса аутофагии у лиц с сахарным диабетом типа 2 в условиях проведения комплексной оздоровительной программы.....	122
<b>ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>126</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>149</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>151</b>
<b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО РАЗВИТИЯ ТЕМЫ.....</b>	<b>152</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>153</b>

## Список сокращений:

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения;

ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации;

ИМТ – индекс массы тела;

ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности;

ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности;

НДЗ – нейродегенеративные заболевания;

КОП – комплексная оздоровительная программа;

ОХ – общий холестерин;

РДТ – разгрузочно-диетическая терапия;

ТГ – триглицериды;

АМПК (activated protein kinase) – активированная протеинкиназа;

АТG (autophagy-related gene) – ген, связанный с аутофагией;

Beclin 1 – белок беклин-1, маркер активности аутофагии;

CLDN2 – claudin 2;

LC3II – light chain 3;

LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2) – богатая лейцином повтор-киназа 2;

МАРТ/tau (microtubule-associated protein tau) – белок, связанный с микротрубочками;

MEF (murine embryonic fibroblasts) – мышинные эмбриональные фибробласты;

mTORC1 (mammalian target-rapamycin complex1) – мишень рапамицина млекопитающих;

NAD<sup>+</sup> (nicotinamide adenine dinucleotide) – никотинамидадениндинуклеотид окисленный;

OPTN – optineurin;

PIK3C3/VPS34 (phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3) – каталитическая субъединица фосфатидилинозитол-3-киназы 3 типа;

PSEN1 – presenilin-1;

SIRT1 (sirtuin 1) – белок сиртуин 1, сенсор энергетического обеспечения клетки;

SNCA/ $\alpha$  – alpha-synuclein;

SQSTM1/p62 – sequestosome 1;

SREBPs (sterol regulatory element-binding proteins) – белки, связывающие регуляторный элемент стерола;

TFEB (transcription factor EB; a transcriptional regulator of autophagy and lysosome genes) – фактор транскрипции EB; регулятор транскрипции генов аутофагии и лизосом;

TORC1 (target of rapamycin complex 1) – мишень комплекса рапамицина 1;

ULK1 (unc-51 like kinase 1) – UNC-51-подобная киназа 1;

VPS35 (vacuolar protein sorting 35) – вакуолярная сортировка белков 35;

WIPI2 (WD-repeat protein interacting with phosphoinositide 2) – белок WD-repeat, взаимодействующий с фосфоинозитидом 2.

# ВВЕДЕНИЕ

## Актуальность темы исследования

Повышение адаптационных возможностей человека, как для сохранения здоровья, так и для его восстановления является приоритетной задачей восстановительной медицины [А.Н. Разумов, 2016]. Для ее решения необходимо знать и уметь активизировать процессы, ответственные за саногенез. Среди таких процессов можно отдельно выделить механизмы аутофагии. В современной научной литературе имеется достаточно большое количество научных исследований, свидетельствующих о том, что для сохранения системного и клеточного гомеостаза необходимо поддерживать на должном уровне процесс аутофагии в клетках [S. Kume, T. Uzu, K. Horiike et al., 2010; H. Liu, A. Javaheri, R.J. Godar et al., 2017; D. Derous, S.E. Mitchell, L. Wang et al., 2017; K.W. Chung, H.Y. Chung, 2019]. Процесс аутофагии направлен на уничтожение ненужных соединений, структур и синтез новых и происходит во всех эукариотических клетках, включая клетки человека [D.J. Klionsky, K. Abdelmohsen, A. Abe, et al., 2016]. Многие исследователи склонны считать, что аутофагия способна увеличить продолжительность жизни человека [V.D. Longo et al., 2010-2015; S.E. Wohlgemuth, A.Y. Seo, E. Marzetti et al., 2010; K.W. Chung, D.H. Kim, M.H. Park et al., 2013; D. Derous, S.E. Mitchell, L. Wang et al., 2017; K.W. Chung, H.Y. Chung, 2019].

Большинство исследований касаются патологических состояний у человека (болезни Паркинсона, Альцгеймера и др.) и их молекулярно-генетических механизмов нарушений процесса аутофагии [S.E. Wohlgemuth, A.Y. Seo, E. Marzetti et al, 2010; Y.C. Ning, G.Y. Cai, L. Zhuo et al., 2013; D.J. Klionsky, K. Abdelmohsen, A. Abe, et al., 2016; L. Yang, D. Licastro, E. Cava et al, 2016; K.W. Chung, H.Y. Chung, 2019; Wang T., Zhang T., Wang Y., 2022]. В экспериментальных и отдельных клинических исследованиях описаны многообразные положительные эффекты при активации аутофагии в организме

млекопитающих и человека, на основании которых ученые предлагают возможность использования аутофагии в лечении миастении, поддержания мышечной массы, регенерации гепатоцитов [Chen W., Chen Y., Liu Y., Wang X., 2022; Liu A-Y., Zhang Q-B., Zhou Y., Wang F., 2022; Byrnes K., Blessinger S., Bailey N. T., Scaife R., Liu G., Khambu B., 2022]. Механизмы аутофагии тесно связаны с апоптозом, являющимся одним из главных элементов патогенеза сахарного диабета 2-го типа [Аметов А.С., 2015]. Однако исследований характера аутофагии у таких пациентов практически нет, а имеющиеся в основном касаются отдельных видов изолированных клеток и клеточных структур [Снигур Г.Л., Сурин С.С., 2021]. Сам процесс аутофагии достаточно сложен и для его осуществления требуется согласованное действие более 30 генов и соответствующих белков [«Genome-wide association studies», 2021]. Такая сложная система создает трудности для ее коррекции в случае необходимости.

### **Разработанность темы**

В многочисленных экспериментальных моделях показано благоприятное воздействие аутофагии на гомеостаз клетки и весь организм. Начиная с момента открытия Y. Ohsumi [Y. Ohsumi, 2001, 2014] механизмов аутофагии было установлено (на грибах), что основным триггером аутофагии является уменьшение энергообеспеченности клетки. Эти данные были экстраполированы на человека. В большинстве случаев рекомендации по применению различных ограничительных диет получены в экспериментах на животных [Del Roso A. et al., 2003; Chen D. et al., 2008; Rickenbacher A. et al., 2013; Lu D. L., et al., 2019]. К примеру, известен способ повышения активности аутофагии у крыс [M. Alirezaei, S.C. Kembball, S.T. Flynn et al., 2017] посредством ограничения калорийности питания, включая голодание. Авторы обнаружили усиление активности аутофагии в нейронах мозга крыс. Однако, эффективность этого метода не подтверждена на людях. В литературе описан способ активации аутофагии в

лейкоцитах у человека [F. Pietrocola, Y. Demont, F. Castoldi et al, 2017], в котором полностью ограничивали прием пищи в течение 1-4 суток. Было установлено наличие признаков активации аутофагии только в нейтрофилах. Нарастание этих признаков фиксировалось уже через 24 часа после начала голодания и продолжалось до конца исследования.

Следует отметить, что при изучении других механизмов и систем установлено положительное влияние самого голодания и ограничения калорийности питания на организм человека и животных [Ю.С. Николаев, Е.И. Нилов, 1973; V.D. Longo et al., 2010-2015; Dorling et al., 2021; Spadaro et al., 2022] и этот факт мало кем подвергается сомнению. В настоящее время распространение получило так называемое «интервальное голодание» [М.В. Алташина, Е.В. Иванникова, Е.А. Трошина, 2022]. Параллельно этим методам в восстановительной медицине и реабилитации используется большой арсенал средств и немедикаментозных методов, способствующих восстановлению здоровья. Так, широко используется в восстановительной медицине лазеротерапия [Байбеков И.М. и др., 2019; Болтабаев М.Р. и др., 2021; Денисова У.Ж., 2019; Илларионов В.Е., 2017; Поддубная О.А., 2020; Корчажкина Н.Б., Купеев Р.В., 2021], биорезонансная терапия [Гусинский А.В. и др., 2018; Джиева А.С. и др., 2022; Каладзе Н.Н., 2020; Кирьянова В.В. и др., 2018; Кирьянова В.В. и др., 2019; Сабюğlu М.Т., et al., 2022], массаж мышц [Акопян Л. И др., 2021; Епифанов В.А. и др., 2020; Еремушкин Е.А. и др., 2018; Коршунов О.И. и др., 2020; Юдакова О.Ф. и др., 2020], гидроклонолтерапия [Emmanuel A., et al., 2019; Henderson M., et al., 2018; Vitton V., et al., 2018; Yates A., 2020] нейростимуляция [Дракон А.К., Корчажкина Н.Б., Шелудченко В.М., 2022] и др. Однако, детального изучения процесса аутофагии и методов его регуляции у человека при различных схемах проведения оздоровительных мероприятий в сочетании с диетотерапией, не проводилось. Не исследованы гендерные, возрастные особенности, а также взаимосвязь активности аутофагии с морфофизиологическими параметрами человека. Все вышеизложенное определило цель настоящего исследования.



## **Цель исследования**

Изучить активность аутофагии под влиянием комплексной оздоровительной программы (КОП) и ограничения калорийности питания в зависимости от гендерных, возрастных и соматоморфологических признаков у пациентов с избыточной массой тела.

## **Задачи исследования**

1. Оценить «базовую» активность аутофагии у мужчин и женщин с избыточной массой тела и выявить ее взаимосвязь с возрастом и отдельными соматоморфологическими признаками, клеточным и биохимическим составом крови.

2. Провести общую и сравнительную оценку реакции аутофагии у мужчин и женщин с избыточной массой тела под влиянием комплексной оздоровительной программы и ограничения калорийности питания продолжительностью до 12 суток.

3. Выявить особенности реакции аутофагии у мужчин и женщин с избыточной массой тела на оздоровительные факторы и полное ограничение калорийности питания различной продолжительности.

4. Установить особенности реакции аутофагии и липидного спектра крови в условиях проведения комплекса оздоровительных мероприятий с разным режимом калорического обеспечения у пациентов с избыточной массой тела.

5. Выявить особенности реакции аутофагии под влиянием комплексной оздоровительной программы у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2-го типа.

## Научная новизна работы

Впервые получена характеристика базовой активности аутофагии у лиц разного возраста, массы тела и гендерной принадлежности. Впервые показано, что базовая активность аутофагии у пациентов с избыточной массой тела характеризуется значительным варьированием и во многом зависит от индекса массы тела (ИМТ) и возраста. Так, у лиц с ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup> и возрасте менее 60 лет активность аутофагии превосходит таковую у лиц с ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup> и в возрасте более 60 лет, при этом активность у женщин превосходит таковую активность у мужчин. У лиц с ИМТ менее 30 кг/м<sup>2</sup> установлены функциональные и корреляционные связи между активностью аутофагии и содержанием тощей, мышечной массы, общей и внеклеточной водой; у лиц с ожирением подобные связи не выявляются.

Проведена оценка реакции аутофагии у пациентов с избыточной массой тела под влиянием комплексной оздоровительной программы (КОП), включающей лечебную физкультуру, ручной и аппаратный массаж, грязелечение, магнитно-инфракрасно-лазерную и биорезонансную терапию, и полную или частичную пищевую депривацию диетотерапию (ограничение калорийности на 40-50%).

Впервые установлено, что реакция аутофагии на под влиянием комплексной оздоровительной программы и частичного ограничения калорийности питания у пациентов с избыточной массой тела проявляется разнонаправленно как в сторону повышения, так и в сторону понижения. Показано, что у лиц, имеющих снижение активности, выявлены отрицательные корреляционные связи с возрастом и положительные с мышечной, тощей массой и количеством внеклеточной воды. У лиц с положительной динамикой аутофагии подобных связей не выявлено.

Доказано, что у мужчин и женщин с избыточной массой тела при сравнительной характеристике показателей аутофагии соматоморфологические признаки имеют корреляционные связи только в отдельных возрастных и

весовых категориях. Реакция у мужчин характеризуется более выраженным ответом на комплексную оздоровительную программу.

Впервые показано, что у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2-го типа имеет место повышенная базовая активность аутофагии и слабая разнонаправленная реакция индуцированной аутофагии на комплексную оздоровительную программу; основной источник повышенного выброса маркера беклина-1 является жировая ткань.

Впервые проведена интегральная оценка аутофагии у пациентов с избыточной массой тела в условиях комплексной оздоровительной программы и полной пищевой депривации различной продолжительности (от 1 до 12 дней). Установлена ранее неизвестная периодичность в активности аутофагии в зависимости от продолжительности лечебного голодания.

Установлено, что в зависимости от степени ограничения калорийности питания у пациентов с избыточной массой тела существенно изменяется активность аутофагии и липидный состав крови.

Научная новизна подтверждается 2 патентами на изобретение (№2656510, RU; №2781901, RU).

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Базовая активность аутофагии у мужчин и женщин во многом определяется массой тела, возрастом и гендерной принадлежностью; у лиц с ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup>, а также в зрелом возрасте активность аутофагии исходно выше, чем у лиц с ИМТ менее 30 кг/м<sup>2</sup> и в пожилом возрасте; у женщин базовая активность превосходит активность у мужчин и отрицательно коррелирует с уровнем гемоглобина.

2. Реакция аутофагии у пациентов с избыточной массой тела на проведение комплексной оздоровительной программы и ограничение калорийности питания может носить разнонаправленный характер, при этом активность аутофагии у мужчин и женщин коррелирует с исследуемыми морфометрическими

признаками и лабораторными показателями крови лишь в отдельных возрастных и весовых категориях.

3. Полная пищевая депривация у пациентов с избыточной массой тела на фоне проведения комплексной оздоровительной программы продолжительностью от 1-3 до 12 суток характеризуется периодичностью в активности аутофагии с повышением ее у лиц, находящихся на полной пищевой депривации 4-6 суток и 11-12 суток, и снижением у лиц, находящихся на полной пищевой депривации продолжительностью 1-3 и 7-10 суток. Предполагается, что выявленная периодизация связана с метаболическими перестройками в организме в процессе пищевой депривации.

4. Гипокалорийное питание менее 800-1200 ккал/сутки на фоне комплексной оздоровительной программы служит физиологическим инструментом для регуляции аутофагии и коррекции нарушений в липидном спектре крови у пациентов с избыточной массой тела.

5. Особенностью базовой аутофагии у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2-го типа является повышенная активность и слабая разнонаправленная реакция на применение комплексной оздоровительной программы.

### **Теоретическая значимость исследования**

В работе показано, что процесс базовой аутофагии у пациентов с избыточной массой тела осуществляется на индивидуальном уровне активности и во многом определяется массой тела, возрастом и гендерной принадлежностью. Показано, что у большинства пациентов с избыточной массой тела реакция на комплексную оздоровительную программу сопровождается активацией аутофагии. В исследовании подтверждена возможность регулирования процессов аутофагии у пациентов с избыточной массой тела с помощью комплекса оздоровительных мероприятий, включающего лечебную физкультуру, ручной и аппаратный массаж, грязелечение, магнитно-

инфракрасно-лазерную и биорезонансную терапию, фито-бочку и полную или частичную пищевую депривацию (ограничение калорийности на 40-50%). Дано теоретическое обоснование дифференцированного использования ограничительных диет и комплексной оздоровительной программы в качестве инструмента для регулирования активностью процесса аутофагии у мужчин и женщин с избыточной массой тела. Установлена периодичность в активности аутофагии в зависимости от сроков ограничения питания, а также разнонаправленность реакции аутофагии, требующая дальнейшего изучения механизмов выявленного явления. Получены теоретические доказательства того, что при дифференцированном подходе, варьируя калорийностью диеты, наряду с активацией аутофагии возможно получать положительные клинические эффекты в липидном спектре крови у пациентов с избыточной массой тела.

Дано теоретическое обоснование оптимальной продолжительности применения ограничительных диет у пациентов с избыточной массой тела на фоне проведения комплексной оздоровительной программы. Особенности, выявленные у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2 типа, диктуют необходимость дальнейшего изучения этих явлений для понимания процессов, происходящих в организме и инсулиноцитах. Вероятным источником активности аутофагии у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2 типа является жировая ткань. Полученные данные расширяют фундаментальные знания о молекулярных процессах у человека в норме и патологических состояниях в условиях проведения КОП.

### **Практическая значимость исследования**

Полученные в исследовании данные о базовой активности аутофагии у мужчин и женщин разного возраста и разной весовой категории могут служить нормативами для оценки активности процесса аутофагии при воздействии различных факторов. Для индивидуальной оценки степени активации аутофагии

предложен показатель «дельта-беклин-1», который в большей степени отражает активацию процесса от исходного уровня.

Практическая значимость исследования заключается в доказательстве возможного регулирования процессом аутофагии у пациентов с избыточной массой тела с помощью оздоровительных программ и ограничения калорийностью питания. С учетом саногенетической функции процесса аутофагии эти моменты особенно важны для получения комплексного оздоровительного эффекта у пациентов с избыточной массой тела. Выявленные гендерные особенности реакции аутофагии на комплексную оздоровительную программу и ограничение калорийности питания позволяют прогнозировать активность аутофагии у мужчин и женщин с избыточной массой тела.

В исследовании установлены оптимальные сроки ограничения пищевой депривации и комплексной оздоровительной программы у пациентов с избыточной массой тела для амбулаторной и клинической практики. Показано, что, регулируя активность аутофагии у пациентов с избыточной массой тела, можно осуществлять коррекцию нарушений липидного спектра крови. Для более выраженной активации аутофагии у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2 типа необходимо проведение повторных комплексных оздоровительных программ.

### **Методология и методы исследования**

Работа выполнена на кафедре физической и реабилитационной медицины с курсом клинической психологии и педагогики ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (Москва). На исследование получено разрешение локального этического комитета ФГБУ ДПО «ЦГМА» (Протокол № 05-1/2020 от 08.12.2020).

Исследование является сравнительным, ретропроспективным, рандомизированным и описательно-аналитическим. Все пациенты находились на лечении в ООО «Центр Здоровье» (г. Майкоп) в период с 2020 по 2021 годы.

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 года и «Правилами клинической практики в РФ», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003г. №266 и с письменного информированного согласия всех участников эксперимента в соответствии с требованиями этического комитета.

Всего в исследование были включены 106 пациентов, имеющих различные весовые характеристики и гендерную принадлежность, из которых 87 пациентов в соответствии с поставленной целью и задачами, критериями включения и невключения были ранжированы и 77 пациентов из них вошли в межперцентильный интервал 5-95% и 19 пациентов с нормальным весом без сопутствующей патологии, которые вошли в контрольную группу. Для выполнения исследования использованы современные и апробированные методы диагностики, иммуноферментного анализа, импедансометрии тела, клинические и биохимические анализы крови.

Для выполнения исследования использованы современные и апробированные методы диагностики, иммуноферментного анализа, импедансометрии тела, клинические и биохимические анализы крови.

Диссертационное исследование выполнено с использованием комбинированного медико-статистического анализа, а также с применением современных клинических и инструментальных методов диагностики и физиотерапевтических воздействий. Основой методологии данного научного исследования было последовательное применение методов научного познания. Комплекс современных статистических математических методов исследования позволил корректно провести обработку материала, получить новые сведения, раскрыть цель и ответить на задачи исследования.

## **Связь задач исследования с проблемным планом**

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно – исследовательских работ ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского» по теме «Разработка современных программ медицинской реабилитации для повышения эффективности лечения больных с распространенными и социально-значимыми заболеваниями».

## **Степень достоверности, апробация и внедрение результатов**

Обоснованность и достоверность полученных результатов подтверждается достаточным для решения поставленных задач объемом исследований, применением современных и адекватных методов исследования, полученные данные были качественно проанализированы с использованием статистических методов математического анализа и вариационной статистики. Результаты, полученные в исследовании, полностью отвечают современным представлениям о разрабатываемой проблеме и согласуются с данными других авторов.

Разработанный метод внедрен в практическую работу ООО «Центр Здоровье» (г. Майкоп), иммуногенетическую лабораторию Адыгейского государственного университета (АГУ) и курортный комплекс «Надежда» (с. Кабардинка), а так же в учебный процесс студентов лечебного факультета II-го курса медицинского института ФГБОУ МГТУ (раздел «Физиология питания»), в научно – образовательный процесс ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» (г. Саратов), иммуногенетическую лабораторию Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону), на кафедре физической и реабилитационной медицины с курсом клинической психологии и педагогики ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (Москва) и кафедре восстановительной медицины и



биомедицинских технологий ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России (Москва).

**Основные положения работы доложены и обсуждены на:** 36-й Научно-практической конференции «ОБРАЗОВАНИЕ-НАУКА-ТЕХНОЛОГИИ» (ФГБОУ ВО «МГТУ»; Майкоп, 6-10 декабря, 2021 г.; XVII Национальном конгрессе терапевтов «Конкурс молодых терапевтов» (постерный доклад), г. Москва, 12-14 октября, 2022 г.; 40-й НЕДЕЛЕ НАУКИ МГТУ (ФГБОУ ВО «МГТУ»; Майкоп, 12-16 декабря 2022 г.); «День Российской науки» в рамках 30-летия со дня образования МГТУ (ФГБОУ ВО «МГТУ»; Майкоп, 8 февраля 2023 г.); Всероссийской научно-практической конференции аспирантов, докторантов и молодых ученых (ФГБОУ ВО «МГТУ»; Майкоп, 18-20 апреля 2023 г.).

**Апробация диссертации** проведена на кафедре физической и реабилитационной медицины с курсом клинической психологии и педагогики ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (Москва) (Протокол №5 от 18 мая 2023 года).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 2 патента на изобретения и 11 статей, в том числе: 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией для публикаций результатов диссертационных исследований, 5 публикаций в иных журналах и 3 публикации в сборниках материалов научных конференций.

**Личный вклад автора.** Автором самостоятельно сформулированы цель и задачи работы, обоснована актуальность выбранной темы, проведен анализ современной литературы, посвященной данной проблеме, сформированы группы и определены адекватные методы обследования и разработана комплексная оздоровительная программа, проведены экспериментальные

исследования и анализ результатов, обоснованы выводы и практические рекомендации, подготовлены материалы для публикации и докладов, подготовлен текст диссертации и автореферата.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Сфера диссертационного исследования и научные положения диссертации соответствуют пункту 2 «Изучение механизмов действия, предикторов и критериев эффективности и безопасности применения немедикаментозных лечебных факторов и медико-социальных технологий в целях персонализированного подхода при разработке технологий повышения функциональных и адаптивных резервов организма, профилактики заболеваний, медицинской реабилитации пациентов, индивидуальных программ реабилитации и абилитации инвалидов» паспорта научной специальности 3.1.33 – Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 180 страницах компьютерного текста и включает в себя 86 таблиц, 27 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материал и методы исследования», двух глав представляющих результаты собственных исследований, главы «Обсуждение результатов и заключение», выводов и практических рекомендаций. Библиографический указатель включает в себя 260 источников, из них 40 отечественных и 220 зарубежных авторов.

## ГЛАВА I. Обзор литературы

### 1.1. Аутофагия и ее физиологическая роль. Виды аутофагии.

Аутофагия (от греч. – самоедство) – это регулируемый процесс, благодаря которому клетка разрушает свои дисфункциональные или чужеродные компоненты и перерабатывает их для своих дальнейших нужд. Данный процесс помогает клетке регулировать состав белкового баланса, физиологические функции, процессы деградации содержимого цитоплазмы и способствует выживанию в период низких энергозатрат из-за ограничения питания или голодания. Аутофагию считают участницей событий при многих неврологических заболеваниях (болезни Хантингтона, болезни Альцгеймера и Паркинсона) и ишемической болезни сердца [Glick D., Barth S., Macleod K.F., 2010].

Термин "аутофагия" был впервые введен Christian de Duve в 1963 году для описания процессов деградации митохондрий и других внутриклеточных структур в лизосомах печени у крыс, перфузированных гормоном поджелудочной железы глюкагоном [Deter R.L., De Duve C., 1967]. Однако, данный процесс описывался еще J. Bordet в 1922 году [Bordet J., 1922].

В 1951 году Christian de Duve [Berthet J., De Duve C., 1951] после открытия «лизосомы» раскрыл механизмы деградации белка. При дальнейшем исследовании было установлено, что органелла «лизосома» обволакивает кислую фосфотазу и различные виды гидролитических ферментов [De Duve C., 2005]. В 1956 году Alex Novikoff [Novikoff B., Beaufay H., De Duve C., 1956] со своими коллегами провели электронно-микроскопическое исследование и более точно идентифицировали лизосомы в клетках и тканях. К 1963 году Christian de Duve определил данный процесс как «аутофагия» дрожжей [Ohsumi Y., 2013]. В 1966 году Christian de Duve и Robert Wattiaux [De Duve C., Wattiaux R., 1966] обнаружили, что в процессе эндоцитоза органеллы сначала попадают в фагосому, которая далее сливается с лизосомой, образуя фаголизосому, где в дальнейшем происходит деградация органелл. После этого A. Arstila и B. Trump [Arstila A.U., Trump B.F., 1968]

показали, что на начальных этапах образуется двухмембранная структура, содержащая часть цитоплазмы и органеллы, называемые аутофагосомами. Далее, Matile Philippe [Matile P., 1978,] обнаружил аутофагию в различных тканях органов животных и в растениях. Эти открытия вызвали интерес к изучению физиологической роли аутофагии. Pfeifer и Warmuth-Metz [Pfeifer U., Warmuth-Metz M., 1983] в своей работе обнаружили, что аутофагия подавляется при кормлении и активируется голоданием.

В начале 1990-х годов, был сделан прорыв в изучении аутофагия на дрожжах [Ohsumi Y., 2013], когда был установлен ряд генов, связанных с аутофагией. Для образования аутофагосом требуются множественные белки Atg, такие как Atg 1-10, 12-14, 16 и 18, которые являются основными белками Atg [Nakatogawa H., et al., 2009].

В 2016 году Есинори Осуми получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине за открытие механизмов аутофагии, в частности механизмов деградации и переработки клеточных компонентов [Zimmermann A., et al., 2016].

В настоящее время выделяют селективную и неселективную [Narendra D., et al., 2008; Parzych K.P., Klionsky D.J., 2014; Li W., et al., 2021] аутофагию. Селективная аутофагия нацелена на поврежденные или избыточные органеллы, приводящая к деградации в лизосоме (вакуоли) [Birgisdottir A.B., 2013; Zaffagnini G., 2016; Rogov V.V., 2017]. Неселективная аутофагия случайно захватывает цитоплазматические компоненты для последующей рециркуляции [Popelka H., 2020]. Кроме этого, выделяют три основных типа аутофагии [Kirkin V., et al., 2009].

1. Макроаутофагия — это тип аутофагии, при котором участки цитоплазмы окружаются двойной мембранной структурой (аутофагосомы), доставляются целиком в лизосомы, образуя аутофаголизасому, где происходит конечная деградация содержимого [Galluzzi L., et al., 2017; Levine B. And Kroemer G., 2019].

2. Микроаутофагия — это тип аутофагии, при котором лизосома захватывает макромолекулы или обломки клеточных мембран, которые затем быстро разрушаются в просвете лизосомы [Li W-w., et al., 2012].

3. Аутофагия, опосредованная шапероном, представляет собой аутофагический путь, при котором денатурированные белки из цитоплазмы направляются в лизосому через мембрану при помощи транспортных белков - шаперонов [Kaushik S. and Cuervo A.M., 2018].

Наиболее широко изученной является макроаутофагия и считается основным типом аутофагии (далее аутофагия). Аутофагия обладает высокой индуцибельностью, поскольку голодание и другие стрессы быстро увеличивают количество аутофагосом. Аутофагосомы генерируются на эндоплазматическом ретикулуме или в непосредственной близости от него. Однако остается неясным, используется ли мембрана эндоплазматического ретикулума непосредственно для формирования аутофагосом. Недавние исследования показывают, что дополнительные мембраны, полученные из комплекса Гольджи, митохондрий и плазматической мембраны, также способствуют образованию аутофагосом. Таким образом, формирование аутофагосом, вероятно, включает в себя множество сложных биохимических и морфологических процессов [Mizushima N., Komatsu M., 2011].

## **1.2. Аутофагия при нарушении физиологических функций организма**

Сегодня появились основания считать, что нарушения механизмов аутофагии приводят к патологическим состояниям организма, таких как нейродегенеративные заболевания (НДЗ), аутоиммунные заболевания, разные формы рака и т.д. [Kosak M., et al., 2021г.]. Так, аутофагия выполняет важные функции в сохранении гомеостатических потребностей постмитотических нейронов как на центральном, так и на периферическом уровнях нервной системы [Menzies F.M., et al., 2017; Scrivero A., et al., 2018; Malluci G.R., et al., 2020].

Thomas Gstrein [Gstrein T., et al., 2018] считает, что ингибирование экспрессии PIK3R4/VPS15 связана с нарушением развития нервной системы и атрофией коры головного мозга, что соответствует фенотипу пациентов с мутациями потери функции в этом гене. Аналогично, *de novo* мутации в гене

аутофагии WDR45 были определены как причинно-следственные связи со статической энцефалопатией детства и с нейродегенерацией во взрослом возрасте, подтипом нейродегенерации с накоплением железа в мозге и с нейродегенерацией человека [Saitou H., et al., 2013; Suleiman J., et al., 2018]. В 2019 году Musharraf Jelani и соавт. [Jelani M., et al., 2019] обнаружили мутацию в Wipi2, связывающую патологическую аутофагию с появлением сложных дефектов нейроразвития.

Carolina Barbosa и соавт. [Barbosa M.C., et al., 2019] также обнаружила, что увеличение возраста организма снижает способность клетки к аутофагической деградации, что приводит к потере гомеостатической функции, которая может способствовать процессу старения и приводить к возрастным заболеваниям центральной нервной системы (ЦНС) и сердечно-сосудистой системы [Mei Y., et al., 2015; Corti O., et al., 2020]. Установлено, что нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Паркинсона, Хантингтона и боковой амиотрофический склероз (БАС), в основе заболевания имеют нарушения формирования аутофагосом, приводя к накоплению патологических белков и дефектных органелл в цитоплазме нейронов [Deng Z., et al., 2017; Scrivo A., et al., 2018; Corti O., et al., 2020; Stamatakou E., et al., 2020]. Также у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями Leslie Crews и соавт. [Crews L., et al., 2010] обнаружили нарушение в работе различных белков аутофагии [Pickford F., et al., 2008]. На сегодняшний день установлен ряд генов участвующих в процессах аутофагии при НДЗ, который включает в себя PRKN/PARK2 [Jin S.M., et al., 2012], PINK1 [Pickrell A.M., Youle R.J., 2015], LRRK2 [Bang Y., et al., 2016], PSEN1 [Lee J.H., 2010], SQSTM1 [Fecto F., et al., 2011] и OPTN [Maruyama H., et al., 2010]. Подавление аутофагии в нескольких трансгенных моделях было использовано для выявления связи между аутофагией и НДЗ. Исследования Myungjin Kim и соавт. [Kim M., et al., 2017] (у дрозофил) показали, что генетическая абляция генов, таких как Atg7, Atg5, Atg1/Ulk1 или Atg17/Rb1cc1, приводит к нейродегенерации. Оказалось, что нейродегенерации способствуют, как недостаточные, так и сверхактивные неселективные или селективные реакции аутофагии [Chu C.T., 2019]. Отключение (у мышей) Atg7 [Komatsu M., et al., 2006] или Atg5 [Hara T., et al., 2006] в ЦНС аналогично приводило к НДЗ, проявляющейся

поведенческими фенотипами, гибелью нейрональных клеток и накоплением убиквитинированных белков. Некоторые исследования показывают, что индукция аутофагии может облегчить симптомы НДЗ. Усиление активности белков аутофагии, таких как АМРК или Atg8a (у дрозофилы), или ATG5, ATG7, BECN1 или TFEB (у мышей), не только индуцирует аутофагию, но также продлевает продолжительность жизни [Spencer B., et al., 2009; Decressac M., et al., 2013]. Также, Annadurai Thangaraj и соавт. [Thangaraj A., et al., 2020] предполагают, что регуляция процессов аутофагии играет важную роль в терапевтической стратегии больных с НДЗ. Таким же образом, фармакологическая или генетическая активация аутофагии является эффективной в нескольких трансгенных моделях НДЗ *in vitro* и *in vivo*, о чем свидетельствует снижение накопления белковых агрегатов и улучшение реакции в поведенческих моделях [Menzies F.M., et al., 2017].

Наиболее распространенную форму деменции у людей представляет болезнь Альцгеймера (БА), вызванная большим накоплением белковых агрегатов, т.е. внутриклеточных клубков МАРТ/tau и/или внеклеточных бляшек бета-амилоидного пептида, что постепенно приводит к гибели нейрональных клеток и снижению когнитивных функций. Недавние исследования Bing Bai и соавт. [Bai B., et al., 2020] методом многослойного анализа протеомики мозга, проведенные на разных стадиях БА у человека, показали, что аутофагический субстрат SQSTM1 / p62 (секвестосома 1) накапливается при БА, что может говорить о нарушении аутофагического потока. Для деградации растворимых и агрегированных вариантов МАРТ / tau требуется полноценная функциональная аутофагия [Berger Z., et al., 2006; Silva M.C., et al., 2020]. Функциональную аутофагию следует рассматривать как физиологическую, без нарушений аутофагического потока. Снижение экспрессии ретромерных белков и вариантов основного ретромерного компонента VPS35 связано с нейродегенеративными заболеваниями, часто перекрывающимися с агрегацией МАРТ / tau в головном мозге [Carosi J.M., et al., 2021; Seaman M.N.J., 2021]. Julian Carosi и соавт. [Carosi J.M., et al., 2020] демонстрируют, что ось аутофагия–лизосома является центральной для клиренса

агрегированного MАРТ/tau, а истощение VPS35 блокирует аутофагию, тогда как сверхэкспрессия VPS35 имеет противоположный эффект.

Болезнь Паркинсона (БП) характеризуется потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции и преобладанием белковых телец Леви, в основном состоящих из SNCA/ $\alpha$ -синуклеина (синуклеин альфа) и других полиубиквитинированных белков, а также везикулярных структур. Симптоматика БП характеризуется выраженной моторной и вегетативной дисфункцией, иногда сопровождающейся когнитивным и психологическим дефицитом. Ранние данные свидетельствуют о роли СМА и макроаутофагии в деградации SNCA/ $\alpha$ -синуклеина [Webb J.L., et al., 2003; Cuervo A.M., et al., 2004]. В 2020 году Insup Choi и соавт. [Choi I., et al., 2020] показали, что селективная аутофагия очищает высвобождаемый нейронами SNCA/ $\alpha$ -синуклеин через рецептор аутофагии SQSTM1/p62 в микроглии, обеспечивая защиту дофаминергических нейронов. В соответствии с этим результатом активация аутофагии уменьшает накопление SNCA / $\alpha$ -синуклеина. В результате этих данных были сделаны выводы Shuhei Nakamura и соавт. [Nakamura S., et al., 2019] о том, что активация аутофагии имеет положительный лечебный эффект и уменьшает накопление SNCA/ $\alpha$ -синуклеина. Эти данные имеют важное практическое значение. В свою очередь, неконтролируемая экспрессия дикого типа или мутированных вариантов SNCA/ $\alpha$ -синуклеина уменьшает аутофагический поток [Decressac M., et al., 2013]. Нейронные дисфункции объясняют летальность, связанную с системным аутофагическим дефицитом (у мышей) [Yoshii S., et al., 2016].

Нарушение аутофагического процесса также оказывает влияние на нейрогенез, что свидетельствует о центральной роли аутофагии в поддержании пулов нервных стволовых клеток у взрослых особей в субжелудочковой зоне боковой стенки желудочка и субгранулярной зоне зубчатой извилины [Fleming A., Rubinsztein D.C., 2020]. Эти результаты подтверждаются при помощи пищевых добавок со спермидином, который также действует как стимулятор аутофагии, смягчают возрастные когнитивные нарушения в гиппокампе мыши и головках дрозофилы [Schroeder S., et al., 2021].



Интересные данные получены при изучении аутофагии в условиях онкогенеза. Последние исследования показывают связь между сниженной аутофагией и онкогенезом, предполагая, что аутофагия является мощным механизмом подавления опухоли. Примером является ген BECN1/VPS30/ATG6 (часть комплекса PtdIns3K), мутации которого являются частым явлением при раке молочной железы [Tang H., et al., 2015] и раке яичников [Delaney J. R., et al., 2020]. Генетические изменения в некоторых других генах ATG, такие как аллельная потеря [Cuomo F., et al., 2019], мутации сдвига кадров [Kang M.R., et al., 2009] и соматические мутации сопряжены с онкогенезом [Wible D.J., et al., 2019]. Была выдвинута гипотеза, а потом подтверждено экспериментально, что значительно сниженный уровень аутофагии может привести к накоплению дисфункциональных митохондрий, увеличению продукции активных форм кислорода и мутагенезу ДНК, особенно в сочетании с перепрограммированной клеточной сигнализацией (например, увеличение передачи сигналов NFE2L2/NRF2 (ядерный фактор, эритроид 2, подобный 2) [Saito T., et al., 2016]. Все это способствует неопластической трансформации [Dikic I., et al., 2010; Amaravadi R., et al., 2016; Kimmelman A.C., White E., 2017]. Напротив, большое количество исследований с использованием системной или органной/опухолеспецифической потери генов Atg, таких как Atg7 или Rb1cc1/Fip200 в генетически модифицированных мышинных моделях показало, что функциональная аутофагия является предпосылкой для прогрессирования опухоли [Mainz L., Rosenfeldt M.T., 2018]. Здесь аутофагия играет важную роль в поддержании достаточного уровня критических процессов, таких как образование промежуточных звеньев цикла трикарбоновой кислоты (ТСА) [Strohecker A.M., White E., 2014], нуклеотидов [Guo J.Y., et al., 2016; Elliot I.A., et al., 2019; Vanzo R., et al., 2020], уровня митохондриального дыхания [Roca-Agujetas V., et al., 2019], активности воспалительного процесса [Deretic V., et al., 2013]. Работа Sandro Goruppi [Goruppi S., et al., 2019] также показала, что нарушения функции аутофагии могут быть существенными для опухолево-стромальных взаимодействий. На сегодня отсутствуют доказательства того, что гены ATG (за исключением BECN1 и

некоторых других генов) могут быть общей мишенью мутагенеза [Lebovitz C.V., et al., 2015].

Важным вопросом является вопрос об особенностях аутофагии в различных тканях организма. В первую очередь логично было бы сделать акцент на физиологически важном органе – это жировой ткани, которая является активным метаболическим органом, от работы внутренних механизмов которого зависит здоровье человека. Одним из таких механизмов является аутофагия. В последнее десятилетие ряд исследований особенно подчеркнули роль аутофагии в функционировании жировой ткани. Доказано, что аутофагический процесс нарушается в жировой ткани людей и животных с ожирением и диабетом, что свидетельствует о важности этого механизма в поддержании метаболического здоровья [Ferhat M., et al., 2019]. Аутофагия может селективно нацеливаться на органеллах, включая липидные капли (липофагия), митохондрии (митофагия), пероксисомы (пексофагия), рибосомы (рибофагия) и эндоплазматический ретикулум (ретикулофагия) [Gatica D., et al., 2018]. Первые доказательства ингибирующего эффекта аутофагии на адипогенез получены в исследовании с использованием эмбриональных фибробластов (MEFs) от мышей с дефицитом Atg5 [Barega R., et al., 2009]. Это исследование показало, что адипогенез связан с увеличением аутофагии в клетках дикого типа и нарушается в клетках с дефицитом Atg5. У человека исследование показало, что аутофагия была увеличена в подкожной жировой ткани у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, о чем свидетельствует обилие точек LC3 и аутофагосом, и это увеличение было связано со снижением передачи сигналов mTOR [Ost A., et al., 2010]. Последующее исследование с использованием подкожных и сальниковых адипоцитов белой жировой ткани из двух разных групп пациентов с ожирением и без ожирения показало повышение экспрессии генов аутофагии и LC3II в сальниковом жире лиц с ожирением [Kovsan J., et al., 2011]. Это наблюдение согласуется с известными данными о подавляющем эффекте липидов на аутофагическую/лизосомальную деградацию, ранее зарегистрированную в печени [Liu H.Y., et al., 2009; Koga H., et

al., 2010; Yang L., et al., 2010],  $\beta$ -клетках [Las G., et al., 2011], сердце [Jaishy B., et al., 2015; Pires K.M., et al., 2017] и гипоталамусе [Meng Q., et al., 2011].

Первоначально аутофагия рассматривалась как адаптивный ответ на клеточный стресс, но в последние годы было показано, что этот процесс регулирует важные внутриклеточные процессы. В жировой ткани аутофагия является ключевым регулятором адипогенеза БЖТ (белая жировая ткань) и БурЖТ (бурая жировая ткань), а дисрегулированная аутофагия ухудшает накопление жира как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, аутофагическая регуляция митохондриального клиренса важна для превращения бежевого жира в белый жир, а подавление аутофагии может быть необходимо для предотвращения отбеливания БурЖТ при ожирении [Ferhat M., et al., 2019].

Аутофагия играет ключевую роль в поддержании кишечного гомеостаза, в регулировании взаимодействия между кишечной микробиотой и врожденным и адаптивным иммунитетом, а также в защите хозяина от кишечных патогенов. Дисфункция аутофагии связана с несколькими патологическими состояниями человека, включая воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) [Nguyen H., et al., 2013]. Pierre Lapaquette и соавторы [Lapaquette P., et al., 2017] показали, что клетки человека, имеющие вариант ATG16L1 T300A, демонстрируют нарушение аутофагически-опосредованного клиренса внутриклеточных бактерий и повышенную продукцию провоспалительных цитокинов. Вместе эти исследования предполагают роль ATG16L1 в контроле кишечного эпителиального гомеостаза и воспалительных иммунных реакций. Недавно были обнаружены потенциальные механизмы, связывающие вариант ATG16L1 T300A с дефектной аутофагией. Действительно, белок ATG16L1 T300A проявляет усиленную КАСП3 (каспазу 3)-зависимую деградацию в ответ на сигналы стресса [Murthy A., et al., 2014]. В 2015 году ученые [Nighot P.K., et al., 2015] впервые обнаружили, что аутофагия регулирует барьерную функцию кишечника через белки плотного соединения CLDN2 (claudin 2), тем самым снижая проницаемость эпителия. Как доказательство этому показано, что дисфункциональная аутофагия приводит к повышению уровня CLDN2, связанного с увеличенной проницаемостью кишечника [Zhang C., et al.,

2017]. Дефектная аутофагия приводит к дисбактериозу кишечника и увеличению количества бактерий, покрытых IgA [Palm N.W., et al., 2014; Tsuboi K., et al., 2015; Yang L., et al., 2018]. Также дисфункциональная аутофагия приводит к накоплению поврежденных митохондрий и АФК, увеличивая активацию воспаления [Ravindran R., et al., 2016] и про-индуцированную клеточную смерть [Guo J., et al., 2018].

Таким образом, исследования аутофагии при различных патологических состояниях демонстрируют важность этого процесса в их патогенезе. Следует отметить, что исследования связи аутофагии и патологического процесса превалирует над исследованиями роли аутофагии в регуляции физиологических процессов. Неоднозначность эффектов активации (или инактивации) аутофагии говорит о сложности регуляции этого процесса. Полученные данные о регуляции аутофагии в условиях воздействия физиотерапевтических факторов открывают пути к разработке более эффективных оздоравливающих программ.

### **1.3. Аутофагия и ограничение калорийности питания**

Одним из подходов к регуляции аутофагии является ограничение калорийности питания. Многие авторы получили различные эффекты ограничения калорийности питания (ОКП) у человека: снижение общей массы тела, жировой [Ravussin E., et al., 2015; Das. S. et al., 2017], мышечной массы [Das. S. et al., 2017], уменьшение минеральной плотности костной ткани [Villareal D.T., et al., 2016]. Было показано, что концентрация инсулина натощак снижается, а чувствительность к инсулину повышается, также снижается кровяное давление, триглицериды, общий холестерин, липопротеины низкой плотности, однако липопротеины высокой плотности повышаются [Ravussin E., et al., 2015; Kraus W.E., et al., 2019]. Установлено, что уровень гормона лептина после курса КОП снижался [Ravussin E., et al., 2015; Meydani S.N., et al., 2016], снижался также уровень трийодтиронина [Ravussin E., et al., 2015], повышался уровень адипонектина [Redman L.M., et al., 2018], 25-гидроксивитамина D [Villareal D.T., et al., 2016], белка связывающего половые гормоны [Martin C.K., et al., 2016]. Также

отмечено снижение белка, связывающего инсулиноподобный фактор роста-1 [Fontana L., et al., 2016], фактора некроза опухоли- $\alpha$ , С-реактивного белка [Ravussin E., et al., 2015; Meydani S.N., et. Al., 2016], количества лимфоцитов [Meydani S.N., et. Al., 2016]. Липиды плазмы крови снижаются, а магний и витамины группы К повышаются, однако белок, углеводы, кальций, витамин А, витамин D и фосфор остаются без изменений [Villareal D.T., et al., 2016]. Что касается физической работоспособности и эмоционального состояния, то здесь отмечено повышение максимального поглощения кислорода [Racette S.B., et al., 2017], улучшение настроения, повышение качества жизни и либидо [Martin C.K., et al., 2016], улучшение рабочей памяти [Leclerc E., et al., 2020].

Следует отметить, что в первых фундаментальных работах нашего отечественного ученого-врача Юрия Сергеевича Николаева [Николаев Ю.С., 1973] доказаны положительные эффекты лечебного голодания (РДТ) у больных шизофренией. При проведении РДТ удавалось добиться длительной ремиссии у этих больных. Наряду с этим, автором были замечены разнообразные положительные эффекты в работе различных систем организма: нормализацию артериального давления, улучшение работы кишечника, потерю лишнего веса и др.

А.Н. Кокосов и С.Г. Осинин [Кокосов А.Н., Осинин С.Г., 2004] использовали разгрузочно-диетическую терапию в лечении больных с хроническими заболеваниями легких. При этом основным механизмом действия они считали очистительный (эфферентный) эффект, что особенно благоприятно влияло на пациентов с бронхиальной астмой. Одновременно авторы отмечали положительный эффект при различных сопутствующих заболеваниях [Кокосов А.Н., Осинин С.Г., 2004]. В работе Ю.Ю. Даутова [Даутов Ю.Ю., 1994] был отмечен стойкий гипотензивный эффект и возможность обратимости артериальной гипертензии на ранних стадиях ее развития при ограничении калорийности питания. Похожие данные получила Т.Ю. Уракова [Уракова Т.Ю., 2010] в своей работе, отметив гипотензивный эффект, нормализацию липидного обмена и улучшение качества жизни пациентов с ожирением.

Недавно в литературе появились сообщения [Lysenkov S.P., et al., 2018] о более глубоких изменениях на геномном уровне под воздействием гипокалорийного питания и лечебного голодания. Была установлена возможность трансверсии нуклеотидов гена ожирения FTO и переход его структуры в «дикий» вариант [Тхакушинов Р.А., 2020]. Важно отметить, что у пациентов с указанной трансверсией в большинстве случаев не наблюдалось повторного набора веса после проведения курса РДТ.

Важным эффектом следует признать снижение концентрации инсулина натощак и одновременное повышение чувствительности к инсулину; также отмечено снижение кровяного давления, триглицеридов, общего холестерина, липопротеинов низкой плотности, повышение липопротеинов высокой плотности [Ravussin E., et al., 2015; Kraus W.E., et al., 2019]. В картине лейкопоза замечено некоторое снижение количества лимфоцитов [Meydani S.N., et al., 2016]; возможно, с этим связан положительный терапевтический эффект голодания при аутоиммунных заболеваниях.

В фундаментальных работах Y. Ohsumi [Ohsumi Y., 2016] показано, что ограничение энергетических субстратов (в эксперименте на грибах) активирует процессы аутофагии. Огромная работа была проведена Yoshinori Ohsumi [Ohsumi Y., 2016] для определения генетических механизмов аутофагии. Он установил, что ограничение энергетических субстратов способствует накоплению аутофагосом в штаммах дрожжей. В 2016 году он определил гены, необходимые для процесса аутофагии, а за комплекс этих работ был удостоен Нобелевской премии.

Как уже было отмечено, что одним из путей активации аутофагии считается голодание или ограничение питания [Chung K. W., Chung H. Y., 2019]. Несколько исследователей высказали предположение о положительном воздействии ограничения питания на здоровье человека и его продолжительность жизни. К этому выводу ученых подвигли в первую очередь экспериментальные данные. Так, Alessandra Del Roso и соавт. [Del Roso A. et al., 2003] изучал аутофагию на самцах крыс, которых кормили по желанию или ограничивали суточный рацион до 40%. У крыс, которых кормили по желанию, аутофагия преобладала у одномесячных

особей, была высокой у 2-х месячных, средней у 6-ти месячных, а в более старшем возрасте была почти незначительной. Эти данные могут подтвердить гипотезу о том, что питание «ad libitum» ускоряет темпы старения за счет повышения уровня инсулина в плазме и подавления аутофагии, а ограничение калорий может разорвать этот порочный круг. John Aris и соавт. [Aris J. P. et al., 2013] изучал роль аутофагии на продолжительность жизни и показал, что аутофагия, индуцируемая ограничением питания, играет роль в предотвращении дефицита кислорода и старения у дрожжей. Sergey Libert и Leonard Guarente [Libert S., Guarente L., 2013] также изучали влияние аутофагии на продление жизни при помощи активации SIRT1. Ограничение калорийности активирует SIRT1 через увеличение NAD<sup>+</sup> из-за замедления гликолиза. Эти эффекты были выявлены в мышцах, печени и белой жировой ткани у мышей [Chen D. et al., 2008]. Следствием этих исследований явилось заключение о том, что активация SIRT1 путем ограничения питания может защитить от ряда заболеваний [Libert S., Guarente L., 2013]. Подобные данные получили и другие ученые [Rickenbacher A. et al., 2013], которые изучали голод, как защитный механизм, при ишемической реперфузии печени на мышах. Sebastiano Sciarretta и соавт. [Sciarretta S. et al., 2011] в результате проведения экспериментальных исследований на моделях был сделан вывод, что аутофагия играет важную роль в поддержании структуры и функции сердца. Takashi Ueno и Masaaki Komatsu [Ueno T., Komatsu M., 2017] в результате анализа научной литературы выявили подтверждение положительной роли аутофагии для поддержания основных функций печени, как гликогенолиз, глюконеогенез и  $\beta$ -окисление. Данный вывод относительно функции печени и аутофагии был подтвержден в экспериментах на мышах [Schneider J. L. et al., 2014].

Исследования Yong An Kim и соавт. [Kim Y. A., et al., 2013] свидетельствуют о значительной роли аутофагии в поддержании мышечной массы и ее целостности, особенно у пожилых людей.

Dong-Liang Lu с коллегами [Lu D. L., et al., 2019] изучали повышение холодостойкости рыб при помощи голодания. Исследователи показали, что умеренное голодание повышает холодостойкость рыб и при этом, убедились в том,

что стимулированный липидный катаболизм и аутофагия играют важную роль. В вышеуказанных исследованиях авторы сделали вывод о том, что голодание способствует рыбам противостоять холодному стрессу, активируя катаболизм липидов и аутофагию. Вторым выводом, сделанным авторами, заключался в том, что голодание может выступать в качестве защитной стратегии для рыб в сопротивлении холоду.

Важную роль аутофагия играет у млекопитающих в предимплантационном развитии, выживании в период неонатального голодания и дифференцировке клеток во время эритропоэза, лимфопоэза и адипогенеза [Mizushima N., Levine B., 2010]. Kume S. [Kume S., et al., 2010] исследовал влияние ограничения калорий на экспрессию гена SIRT1 и показал, что снижение экспрессии гена способствует старению. Данный анализ был проведен у мышей пожилого возраста и сделан вывод о том, что ограничение калорий усиливает активацию гена SIRT1.

При микроскопическом исследовании после 24-часового ограничения питания у мышей количество аутофагосом в печени увеличилось, а после 48-часового показатели были еще выше исходного количества [Alirezai M., et al., 2010]. С. Nunez и соавт. [Nunez C., et al., 2013] изучали активность аутофагии в жировой ткани при ожирении. Были получены интересные результаты: при анализе у мышей с ожирением уровень Beclin-1 (маркер аутофагии) был повышен, а у худых мышей снижен. После ограничения питания на 40% у тучных мышей активность аутофагии снижалась, а у худых повышалась. Однако, при переходе на обычное питание, уровень Beclin-1 становился исходным. Также был проведен анализ у людей с ожирением, с диабетом и без диабета до- и после бариатрической операции. Полученные данные были аналогичными, как и в экспериментах на мышах. Оказалось, в группе до операции экспрессия Beclin-1 была выше, чем после операции.

Xigui Chen с коллегами [Chen X., et al., 2015] изучали реакцию аутофагосом на голодание и обнаружили, что при голодании увеличивается количество, размер и интенсивность аутофагосом в нейронах мозга у мышей.



Данные, полученные Н. Liu и соавт. [Liu H., et al., 2017] демонстрируют то, что островки поджелудочной железы (ПЖ) мышей, которых кормили высококалорийной диетой с целью спровоцировать диабет, демонстрируют нарушение аутофагического потока. Напротив, прерывистое голодание восстановило аутофагический поток в островках ПЖ у мышей, которых кормили высококалорийной пищей, о чем свидетельствует индуцированное хлорохином накопление LC3B-II и SQSTM1 по сравнению с их аналогами. Это нарушение аутофагического потока в островках ПЖ мышей, получавших высококалорийное питание, сопровождалось снижением уровня содержания транскриптов Tfeb - (на 27% по сравнению с островками ПЖ мышей, получавшей обычное питание) главного регулятора аутофагии-лизосомного механизма [Settembre C., et al., 2011;2013]. Предполагается, что ингибирование TFEB играет важную роль в воздействии диеты с высоким содержанием жиров на нарушение «аутофагического потока» в островках ПЖ. Действительно, прерывистое голодание предотвращало снижение активности мРНК Tfeb в островках у мышей с ожирением, вызванное диетой, что согласуется с данными R.J. Godar и соавт. [Godar R.J., et al., 2015].

Nuria Martinez-Lopez и соавт. [Martinez-Lopez N., et al., 2017] представили данные о том, что ограничение калорийности питания (КОП) способствует метаболической гибкости и предотвращает метаболические дефекты, связанные с возрастом. Также авторы показали, что промежуточное голодание активирует аутофагию в печени, жировой ткани, мышцах. Их данные предполагают, что АМПК и mTOR и их противоположные влияния на белок-активатор аутофагии ULK1 / ATG1 потенциально могут реорганизовать аутофагию в ответ на КОП, однако данное представление требует дополнительных исследований.

Hana Kahleova и соавт. [Kahleova H., et al., 2014] считает, что КОП положительно влияет на продолжительность жизни, однако длительное КОП связано с потерей мышечной массы, что может оказывать влияние на процессы саркопении. Авторы считают, что 2-х разовое питание в сутки снижает уровень глюкозы в крови в сравнении с группой лиц, которых получали 6-и разовое питание в сутки.

Mark Mattson и соавт. [Mattson M.P., et al., 2017] изучали реакцию организма на прерывистое и периодическое голодание в экспериментах на животных. Прерывистое голодание авторы считали при полном или частичном ограничении потребления калорий от 16 до 48 часов, а периодическое голодание включало в себя периоды голодания от 2 до 21 суток. В обоих случаях зафиксировано благоприятное влияние на здоровье крыс и мышей. Ограничение суточного приема пищи до 8 часов демонстрировало снижение веса, улучшение показателей здоровья, включая снижение резистентности к инсулину и снижение факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Считается, что при помощи прерывистого голодания [Fukuda T., Shiozaki K., 2021] активируются сигнальные пути адаптивной клеточной реакции на стресс, которые улучшают функции митохондрий и процесс восстановления ДНК, аутофагию, способствуют регенерации стволовых клеток и долгосрочному метаболическому эффекту.

При голодании людей в течении 2-4 дней, происходят различные изменения в метаболоме плазмы: увеличении свободных жирных кислот и/или различных видов ацилкарнитинов, отражающих липолиз во время мобилизации эндогенных жировых запасов [Finn P.F., Dice J.F., 2006; Cahill G.F., 2006]. Такие же результаты были получены M. Bouwens и соавт. [Bouwens M., et al., 2007] в исследованиях на людях после 48-часового голодания.

M.M. Dethlefsen и соавт. [Dethlefsen M.M., et al., 2018] провели сравнение активности аутофагии между тренированными людьми и нетренированными. Авторы обнаружили значительную взаимосвязь ( $p < 0,05$ ) между временем полной пищевой депривации, состоянием тренировки и содержанием белка Beclin-1 в скелетных мышцах. У тренированных обследованных после суточного голодания отмечалось более высокое содержание уровня Beclin-1, чем у тех, кто не тренировался. Также было выявлено снижение содержания белков LC3I, LC3II и p62 только в скелетных мышцах у нетренированных субъектов после 36 ч голодания. Это явилось доказательством того, что физические нагрузки влияют на активность аутофагии при голодании и предупреждают распад белков в мышцах. Известно, что количество белка LC3II указывает на наличие аутофагосом в

организме [Mizushima N., et al., 2004; Mizushima N., et al., 2007]. Отдельные авторы [Mammucari C., et al., 2007; Mizushima N., et al., 2004] подтвердили данные о том, что 24 и 48 ч голодание увеличивает интенсивность аутофагии в скелетных мышцах.

Ряд авторов [Ebato C., et al., 2008; Jung H.S., et al., 2008; Rivera J.F., et al., 2014] на основании своих исследований утверждают, что аутофагия необходима для выживания бета-клеток в гомеостатических условиях, протеотоксическом и глюколипотоксическом стрессе. Н. Liu и соавт. [Liu H., et al., 2016] предлагает использовать прерывистое голодание в качестве терапии, которая может быть средством для повышения активности бета-клеток во время диабетогенного стресса. Группа авторов [Wan R., et al., 2003; Anson R.M., et al., 2003; Harvie M.N., et al., 2011; Longo V.D., et al., 2014; Godar R.J., et al., 2015] предлагают повторные голодания, как стимул для импульсной активаций пути «аутофагия-лизосома» и, как следствие, для профилактики и лечения сахарного диабета.

Можно предположить, что наблюдаемые эффекты от ограничительных диет у человека могут быть связаны с активацией процесса аутофагии, играющие важную роль в поддержании саногенеза.

Следовательно, несмотря на очевидность вывода о благоприятном влиянии ограничения калорийности питания на процессы аутофагии, конкретные целенаправленные исследования на людях оказались единичными. Эти исследования не дают представления об особенностях процесса аутофагии у человека в условиях проведения комплексных оздоровительных программ, а также в зависимости от гендерной принадлежности, возраста, степени ограничения калорийности питания, режимов питания и т.д. Все эти вопросы требуют детального изучения.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика обследованных групп

Всего в исследование были включены 106 пациентов - мужчин и женщин зрелого I и II периодов (81 человек) и пожилого возраста (25 человек), имеющих различные весовые характеристики и гендерную принадлежность, проходивших обследование и оздоровительный курс в ООО «Центр Здоровье» (г. Майкоп), из которых 87 пациентов с избыточной массой тела в соответствии с поставленной целью и задачами, критериями включения и невключения были ранжированы по межпроцентильному и межпроцентильному интервалам и 77 пациентов из них вошли в межпроцентильный интервал 5-95% и были включены в группу «пациенты с ожирением» и согласно классификации, предложенной на VII конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии и утвержденной на симпозиуме Академии педагогических наук СССР в 1965 году разделены на возрастные группы [Е.П. Якимович, В.В. Немцова, Д.А. Ключников, 2018]. В отдельных фрагментах была применена возрастная классификация ВОЗ [Ahmad O.V., et al., 2001], а также были выделены группы по возрасту до – 60 (зрелый I-период и зрелый II-период) и после 60 лет. В контрольную группу вошли 19 практически здоровых лиц с нормальной массой тела без хронических заболеваний и сахарного диабета 2 типа:  $M_{ср.} \pm m_0 = 37,4 \pm 7,1$  кг/м<sup>2</sup> и 19 пациентов с нормальным весом без сопутствующей патологии, которые вошли в контрольную группу. Для выполнения исследования использованы современные и апробированные методы диагностики, иммуноферментного анализа, импедансометрии тела, клинические и биохимические анализы крови.

Участники исследования проходили профилактический оздоровительный курс на базе клиники ООО «Центр здоровье» в г. Майкопе.

### **Критерии исключения из программы исследования:**

- Возраст моложе 20 лет;
- Острые вирусные инфекции;
- Острые воспалительные заболевания суставов;
- Онкологический процесс;
- Туберкулез различных органов в активной фазе;
- Острый гепатит;
- Инсулинозависимый сахарный диабет I типа;
- Гнойно-деструктивные процессы различной локализации;
- Тиреотоксикоз;
- Беременность;
- Соматические заболевания в стадии декомпенсации;
- Хроническая почечная недостаточность;
- Флеботромбозы;
- Кахексия;
- Хроническая сердечная недостаточность ФК 2Б-3;
- Острый инфаркт миокарда;
- Нарушение ритма сердца;
- Кардиостимулятор.

### **Критерии включения в программу исследования:**

- Лица зрелого и пожилого возраста;
- Имеющие избыточную массу тела (различный вес и степень ожирения);
- Мужчины и женщины;
- Пациенты с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2-го типа;
- Информированное согласие на участие в исследовании.

## **2.2. Методы исследования**

Всем обследуемым рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) по коэффициенту Кетле: отношение массы тела (кг) к росту ( $m^2$ ); регистрировали артериальное давление, пульс, температуру тела.

Согласно классификации ВОЗ от 1981г. нормальным считается ИМТ 18,5-24,9 кг/ $m^2$ ; при избыточной массе 25-29,9 кг/ $m^2$ ; при ожирении 30 и более кг/ $m^2$ .

Исследование компонентов состава тела проводили импедансометрическим способом на аппарате Medi Ld (France) с помощью программного обеспечения EIS-ESTECK (США) до проведения курса КОП и спустя 12 суток. Исследовали следующие показатели: общую жировую массу (кг), мышечную массу (кг), тощую массу (кг), общую жидкость (кг), внутриклеточную воду (кг), внеклеточную воду (кг).

Используемый импедансометрический метод («EIS-ESTECK») –позволяет неинвазивно, но комплексно оценивать состав тела и функциональное состояние органов и систем пациента [Шарова Л.В., Исаков М.Н., Абызова Т.В., 2008]. В основе импедансометрического метода положен метод электроплетизмографии-электропроводности тканей на различных задаваемых прибором токов различной частоты, проходящих через регистрационные электроды. Метод применяется для получения быстрой экспресс-оценки состава тела в динамике процесса.

В основу теоретического обоснования метода положены работы Р. Фолля, Х. Пфлаума [Fogh-Andersen N., et al., 1995; Gilányi M., et al., 1988]. Компьютерная программа позволяет создать базу данных, что важно для наблюдения за обследованными в динамике. «EIS-ESTECK» соответствует стандартам качества изделий медицинского назначения России (сертификат FR.ИМ.В12035). Прибор соответствует классу медицинского оборудования типа ВF согласно норме IEC601-1/EN60601-1. Компьютерная система прошла клинические испытания на базе ГКБ им. С.П. Боткина и РНЦ Восстановительной медицины и курортологии [Толоконин А.О., 2007; Криворучко В.И., Нелюбин В.В. 2013]. Использование аппарата разрешено и рекомендовано Министерством Здравоохранения России (регистрационное удостоверение № 2003/990 от 07.07.2003) к использованию в диагностике и контроля проводимой терапии в различных медицинских учреждениях.

Активность процессов аутофагии оценивали по уровню концентрации белка Beclin-1 (беклин-1). Концентрацию беклина-1 определяли методом иммуноферментного анализа на аппарате «CLARIOstarplus» BMG LABTECH (Germany) при помощи тест-наборов «Cloud-Clone Corp» (USA). Концентрация маркера беклин-1 выражалась в пг/мл. Забор крови производился утром натощак при поступлении в оздоровительный центр и на 12-й день пребывания. Продолжительность полной пищевой депривации (ПД) составила от 1 до 12 суток с последующим переходом на гипокалорийное питание (800-1200 ккал/сутки). В связи с высокой вариабельностью концентрации беклина-1, для характеристики выборки был использован межпроцентильный интервал 5%-95%, а в отдельных случаях межквартильный интервал 25%-75%. Лабораторные исследования проводились до КОП и после, включали в себя клинический анализ крови, лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) по Кальф-Калифа, биохимический анализ крови, в частности, определение липидного спектра (общий холестерин, ХС липопротеидов низкой плотности, ХС липопротеидов высокой плотности, триглицериды), углеводного обмена (гликемия натощак), а также общий анализ мочи. Для определения биохимических исследований использовался иммуноферментный анализ с помощью анализатора «Alisei» (Италия).

### **Комплексная оздоровительная программа**

Всем пациентам проводилась комплексная оздоровительная программа, которая включала в себя: следующие процедуры и мероприятия: в первый день осуществлялся прием солевого слабительного (35-40 гр. «английской соли»). Затем назначалось полное или частичное ограничение калорийности пищи в течение 1-12 дней до 800-1200 ккал/сутки (диета с преобладанием сложных углеводов растительного происхождения - 60%, белков - 15%, ненасыщенных жиров - 25%) с потреблением 1,5-2,0 л воды и ограничением поваренной соли до 4 г/сутки. Дезинтоксикационные процедуры включали в себя очистительные клизмы 1 раз в сутки объемом 1,5-2,0 литра воды комнатной температуры, гидроколонтерапию продолжительностью 20-30 мин, объемом воды до 20-30 л, комнатной температуры (периодичность проведения процедуры - через день), теплый душ 2-3 раза в день.

Ручной массаж проводился ежедневно по 30 мин. одной зоны позвоночника, аппаратный массаж осуществлялся с помощью кровати-массажера и кресла-массажера продолжительностью 20-30 мин (через день). Магнитно-инфракрасно-лазерная терапия проводилась на аппарате «Милта», ЗАО «НПО Космического приборостроения» курсом 3-4 процедуры с чередованием с биорезонансной терапией. Последняя проводилась с помощью интерстициального сканера EIS CE 0535 системы ESTECK System Complex, USA; продолжительность процедуры -5 мин, одна процедура в 2-3 дня. Фитобочка применялась 2-3 раза в неделю (температура - 38-43°C, продолжительность процедуры 15 мин, производитель «Роскедр», Санкт-Петербург). Грязелечение осуществлялось нанесением голубой глины на суставы слоем от 2-х до 4-х см при температуре грязи 35-38°C, продолжительностью 15-20 мин., через день. Терренкур проводился ежедневно с постоянным увеличением дистанции с 3-х до 6 км и ежедневным пребыванием на свежем воздухе в течение 2,0-2,5 часов.

Контрольную группу составили 19 человек в возрасте 23-56 лет без лишнего веса и сопутствующей патологии. Контрольными точками исследования были: до начала получения программы и на 12 сутки после начала получения программы. В качестве критерия базовой активности аутофагии была концентрация белка-маркера беклина-1 в плазме крови; для оценки степени активации аутофагии был введен показатель «дельта-беклин-1»

Обследуемые, находящиеся на гипокалорийной диете, а также осуществляющие «выход» из лечебного голодания получали диету с преобладанием сложных углеводов растительного происхождения – 60%, ненасыщенных жиров – 25%, растительных белков – 15%, с исключением рафинированных углеводов и ограничением поваренной соли – до 4 г/сутки.

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000г. и «Правилами клинической практики в РФ», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003г. №266 и с письменного информированного согласия всех участников эксперимента.



Анализ цифровых данных проводился с использованием программного обеспечения IBM SPSSStatistics (26.0). Для характеристики статистического ряда использовались процентиля 5%-95% и квартили 25%-75% с вычислением среднего значения, стандартного отклонения, стандартной ошибки средней. Для сравнения средних значений использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, параметрический t-критерий Стьюдента. В целях выявления связей между исследуемыми параметрами использовался корреляционный анализ Пирсона. Связь считалась достоверной при  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ АУТОФАГИИ У ЧЕЛОВЕКА

### 3.1. Характеристика показателей беклина-1 до- и после проведения комплексной оздоровительной программы (КОП) во всей обследованной группе

Показатели уровня Beclin-1 в общей группе (87 человек) до проведения КОП у лиц с различной массой колебались в широких пределах от 0,1 до 1014,44 пг/мл; среднее значение составило – 100,51 пг/мл; медиана – 44,35 пг/мл; стандартное отклонение –  $\pm 168,35$  пг/мл. Наличие такого разброса в показателях обосновал анализ выборки с использованием процентилей и квартилей.

Межпроцентильный интервал 5%-95% (77 человек) включал значения Beclin-1 от 6,14-459,70; среднее значение ряда – 72,83 пг/мл; медиана – 44,35 пг/мл; стандартное отклонение –  $\pm 82,44$  пг/мл.

В группу 25% -75% квартилей вошли 43 человека с минимальным уровнем концентрации Beclin -1 – 23,10 пг/мл, а максимальным – 92,12 пг/мл; среднее значение – 49,09 пг/мл; медиана – 44,35 пг/мл; стандартное отклонение –  $\pm 20,99$  пг/мл.

При анализе полученных данных использовали показатели как межпроцентильного интервале 5%-95%, так и межквартильного 25%-75%.

В межпроцентильном интервале 5-95% был проведен корреляционный анализ между уровнем Beclin-1 до КОП и морфофизиологическими параметрами (Таблица 3.1.1-3.1.4). У лиц с ИМТ  $<30$  кг/м<sup>2</sup> после КОП концентрация беклина-1 увеличилась на 40,1% по сравнению с исходным, а у лиц с ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> – на 78,8%.

Таблица 3.1.1 - Корреляционная зависимость между индексом массы тела и концентрация Веслин-1 до- и после проведения КОП (интервал 5%-95%)

Исследуемая группа	Коэффициент корреляции между ИМТ и уровнем Веслин-1
До КОП	
Вся группа (n=77)	-0,129
ИМТ <30 (n=24)	-0,275
ИМТ ≥30(n=53)	-0,177
После КОП	
Вся группа (n=65)	0,210
ИМТ <30 (n=23)	-0,154
ИМТ ≥30 (n=42)	0,067

Как видно из таблицы 1, корреляционная связь между ИМТ и Веслин-1 – не выявлялась (Таблица 3.1.1).

Таблица 3.1.2 - Сравнительный анализ уровня беклина-1 у лиц с различным ИМТ и корреляционная зависимость между возрастом и концентрация Веслин-1 до- и после КОП в различных весовых категориях (интервал 5%-95%)

Исследуемые группы	Статистическое значения Веслин-1 (пг/мл)			Коэффициент корреляции между возрастом и Веслин-1
	До КОП			
	М ср.	±σ	m <sub>0</sub>	
Вся группа (n=77)	72,8	82,4	9,4	-0,17
ИМТ <30 (n=24)	72,2	96,9	19,7	0,09
ИМТ ≥30 (n=53)	73,1	76,0	10,4	-0,25
После КОП				
Вся группа (n=65)	74,7	60,2	6,2	-0,4**
ИМТ <30 (n=29)	67,8	44,6	8,3	-0,35
ИМТ ≥30 (n=36)	80,2	63,4	9,0	-0,59**

Корреляция значима на уровне  $p < 0,01^{**}$

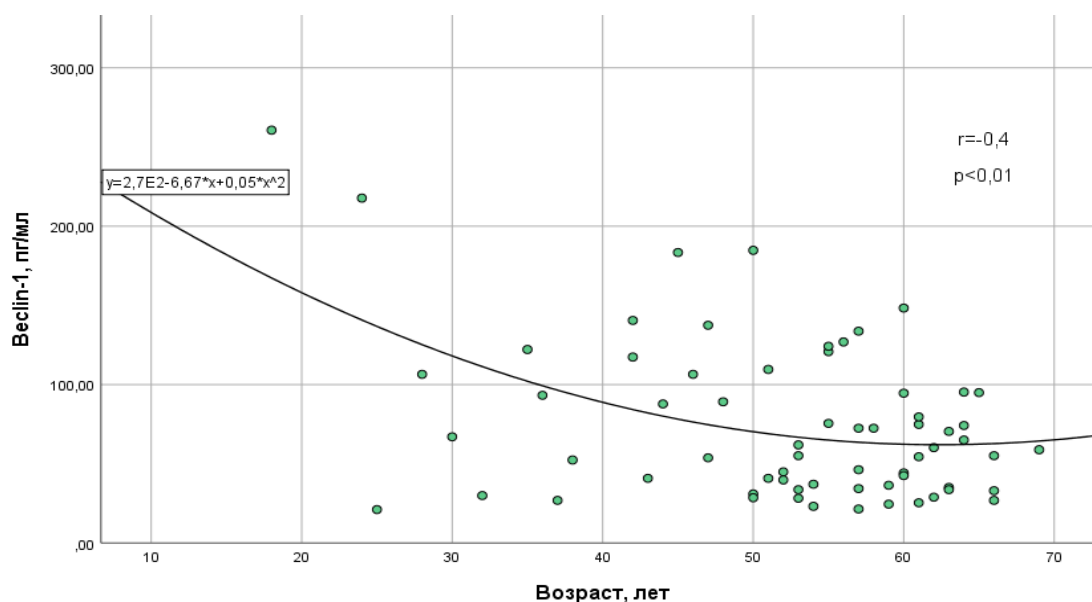


Рисунок 3.1.1 – График корреляционной зависимости между возрастом и Veslin-1 в общей группе после проведения КОП

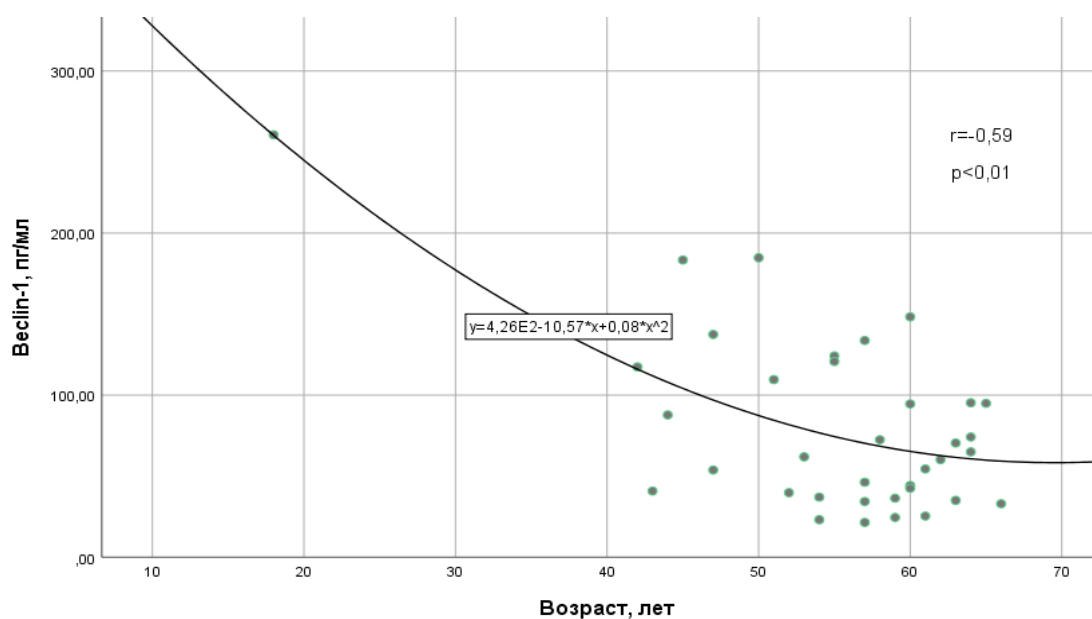


Рисунок 3.1.2 – График корреляционной зависимости между возрастом и Veslin-1 у лиц с ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> после КОП

Корреляционная связь между возрастом и уровнем Veslin-1 до КОП, оказалась не достоверна, однако после КОП во всей группе и в группе с ожирением связь оказалась отрицательной и высоко достоверной (Таблица 3.1.2).

Следовательно, после проведения КОП в интервале от 21 до 69 лет с увеличением возраста активность *Veclin-1* снижается, о чем свидетельствует установленная отрицательная достоверная связь ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,01$ ).

Далее, был проанализирована корреляционная зависимость между концентрацией *Veclin-1* у пациентов в возрасте до 60 лет и после 60 лет.

Таблица 3.1.3 – Сравнительный анализ уровня беклина-1 в различных возрастных группах и корреляционная зависимость между возрастом и концентрация *Veclin-1* до- и после КОП

№ п/п	Количество наблюдений	Исследуемые группы	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Коэффициент корреляции	P
До КОП							
1	54	До 60 лет	77,2	86,2	11,7	-0,15	P <sub>1-2</sub> <0,48 P <sub>1-4</sub> <0,8 P <sub>2-5</sub> <0,96 P <sub>4-5</sub> <0,0001 P <sub>3-6</sub> <0,1
2	23	После 60 лет	62,5	73,7	15,3	0,44*	
3	77	Все	72,8	82,4	9,4	-0,17	
После КОП							
4	44	До 60 лет	80,9	56,8	8,5	-0,39**	P <sub>4-5</sub> <0,0001 P <sub>3-6</sub> <0,1
5	21	После 60 лет	61,7	30,2	6,6	-0,2	
6	65	Все	74,7	60,2	6,2	-0,4**	

Примечание: \* - Корреляция значима на уровне 0,05; \*\* - Корреляция значима на уровне 0,01.

Так, с увеличением возраста в интервале после 60 лет выявлена (Таблица 3.1.3) умеренная, но высоко достоверная положительная связь до КОП ( $r = 0,44$ ;  $p < 0,01$ ) и отрицательная корреляционная связь между возрастом и уровнем *Veclin-1* после ( $r = -0,39$ ;  $p < 0,01$ ) проведения КОП. Другими словами, чем больше был возраст обследуемых, тем ниже концентрация *Veclin-1* в возрастном интервале до 60 лет. Однако после 60 лет активность *Veclin-1* до проведения КОП с возрастом повышается, о чем свидетельствовала достоверная положительная корреляционная связь. Особенно следует отметить, что после КОП концентрация *Veclin-1* у лиц до 60 лет без учета гендерных различий достоверно превосходили концентрации *Veclin-1* у лиц после 60 лет (Таблица 3.1.2;  $p < 0,0001$ ). В группе до 60 лет на 82,8% выше, чем исходный уровень в контрольной группе. После 60 лет и после КОП на 34,2 выше по сравнению с контролем.

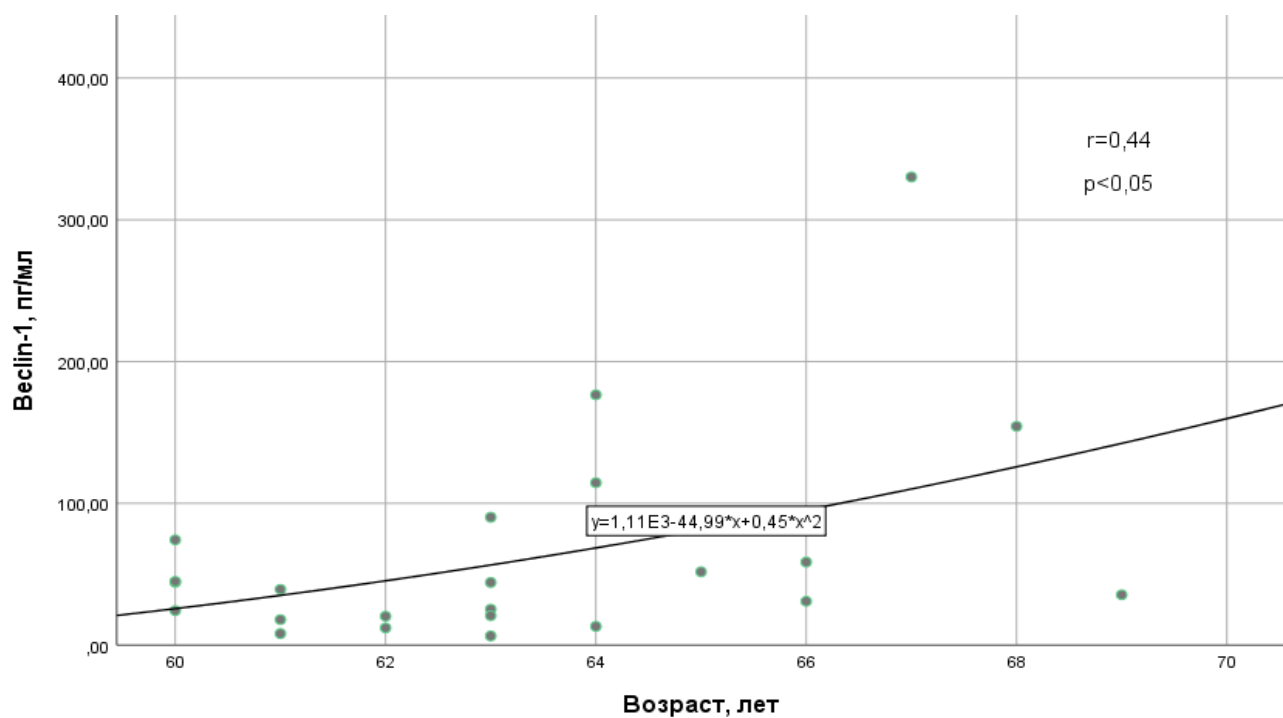


Рисунок 3.1.3 - График корреляционной зависимости между возрастом >60 лет и Veslin-1 до КОП

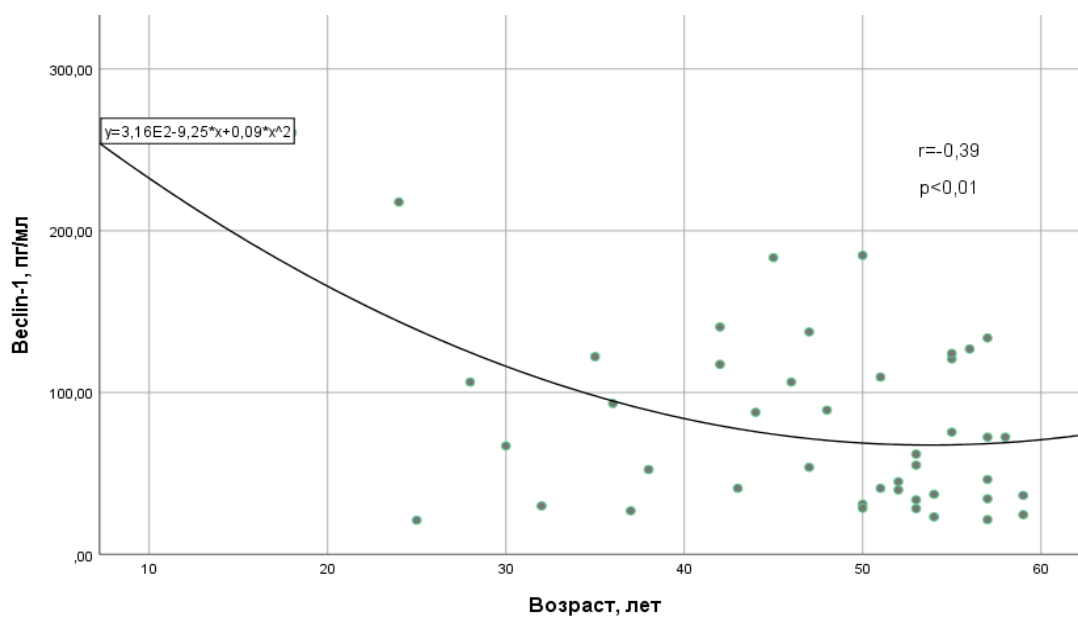


Рисунок 3.1.4 - График корреляционной зависимости между возрастом <60 лет и Veslin-1 после КОП

Выявленный феномен требует дальнейшего изучения и объяснения. У исследуемой группы до 60 лет после КОП (Таблица 3.1.3;  $r=-0,39^{**}$ ), корреляционная связь уже выявлялась отрицательной, но высоко достоверной.

Однако между группами статистически значимых различий в показателях не определялось.

Отрицательное значение коэффициента корреляции после КОП может свидетельствовать о том, что до 60 лет на фоне гипокалорийного питания активность маркера с возрастом снижается, но в пределах контрольных показателей. В этом случае логично говорить о нормализации показателей.

Учитывая тот факт, что исследуемая группа по весовым параметрам оказалась неоднородной, дальнейший анализ был проведен с учетом наличия морфофизиологических параметров состава тела.

В частности, был проведен корреляционный анализ уровня концентрации *Vislin-1* и параметрами состава тела в группе обследуемых с нормальным + избыточным весом и ожирением. Для этого нами было сформирована общая группа из обследуемых, имеющих нормальный и избыточный вес. Эту группу мы условно приняли за контроль.

Таблица 3.1.4 – Корреляционная зависимость между показателями состава тела и концентрация *Vislin-1* до- и после КОП в группах с различным индексом массы тела

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции					
	До КОП					
	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=79)	0,04	0,05	0,07	0,06	0,09	0,01
ИМТ <30 (n=28)	0,39*	0,39*	0,26	0,39*	0,47*	0,23
ИМТ ≥30 (n=51)	-0,05	-0,05	0,04	-0,02	-0,02	0,69
После КОП						
Вся группа (n=72)	-0,006	-0,006	0,09	0,01	0,008	-0,01
ИМТ <30 (n=34)	0,23	0,23	0,28	0,3	0,2	0,2
ИМТ ≥30 (n=38)	-0,12	-0,12	0,1	-0,12	-0,1	-0,11

Примечание: М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \*- достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,05$ .

Корреляционный анализ показал (Таблица 3.1.4.), что существуют достоверные прямые корреляционные связи между мышечной массой до КОП и

уровнем Veclin-1 ( $p < 0,05$ ); тощей массой до КОП и уровнем Veclin-1 ( $p < 0,05$ ); общей жидкостью до КОП и уровнем Veclin-1 ( $p < 0,05$ ); интерстициальной жидкостью и уровнем Veclin-1 ( $p < 0,05$ ). В остальных группах корреляционные связи не выявлялись.

Ограничение калорийности питания сопровождалось потерей выявленных связей (после КОП).

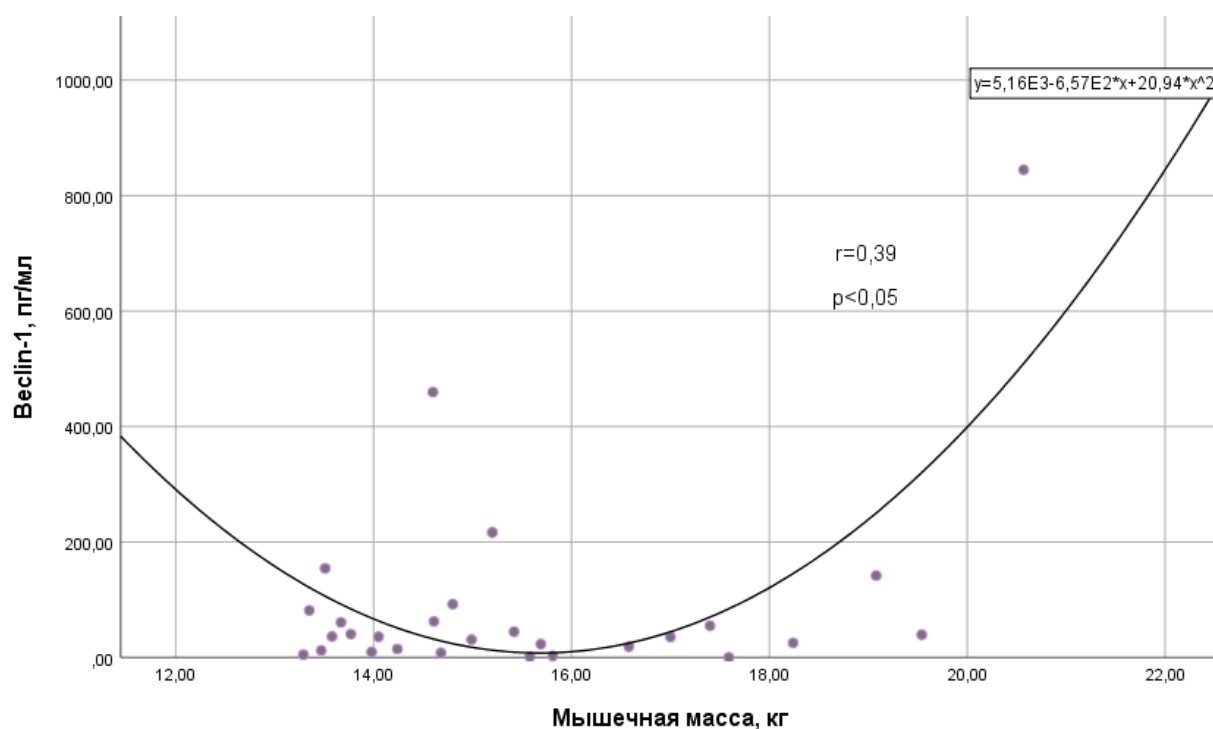


Рисунок 3.1.5 - График корреляционной зависимости между мышечной массой и Veclin-1 до КОП, у лиц с ИМТ  $< 30 \text{ кг/м}^2$

Как видно из рисунка 3.1.5 наиболее оптимальным содержанием мышечной массы является диапазон от 13 до 18 кг. При указанном содержании мышечной массы фиксируется уровень Veclin-1 от 10 до 110 пг/мл (ср. значение 49,0 пг/мл), что соответствует физиологическим колебаниям показателя аутофагии.

С учетом важности воды и водной среды для протекания физиологических процессов аутофагии, были проанализированы корреляционные связи между общей, внеклеточной и внутриклеточной жидкостью и уровнем Veclin-1. Были



установлены прямые достоверные связи между содержанием общей воды и Veslin-1 (Рисунок 3.1.6.) и внеклеточной водой и Veslin-1 у лиц <math><30 \text{ кг/м}^2</math>.

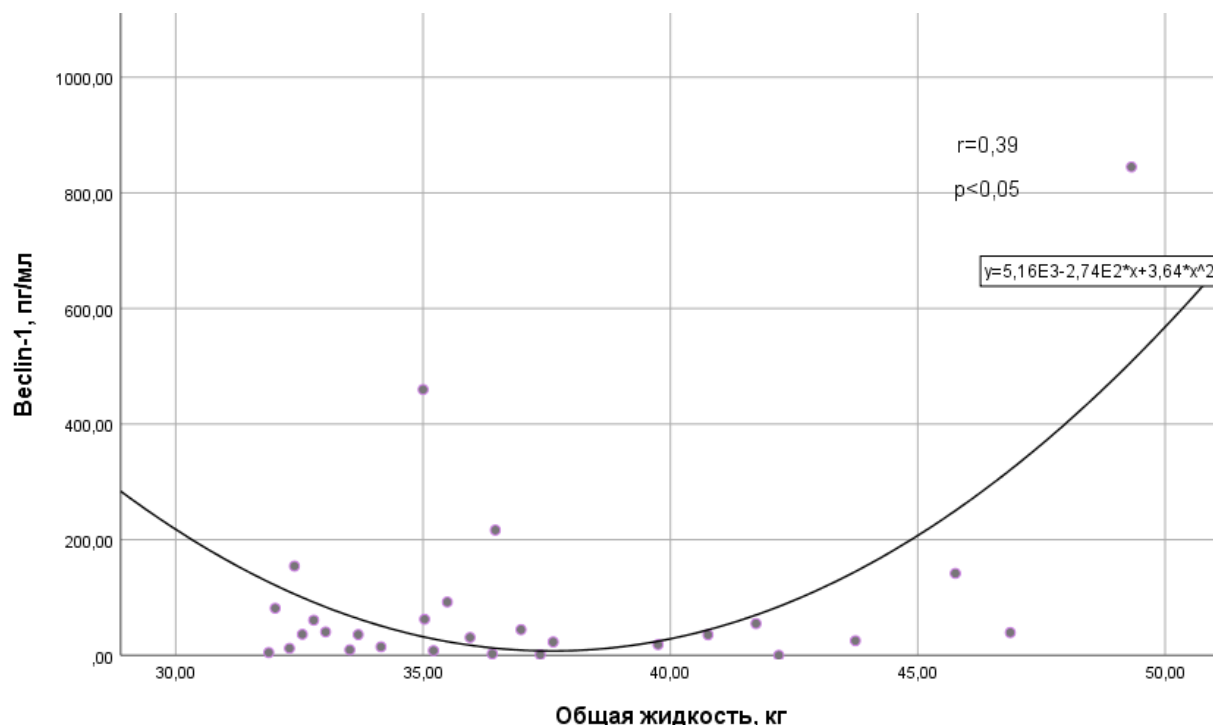


Рисунок 3.1.6 - График корреляционной зависимости между общей жидкостью и Veslin-1 до КОП у лиц с ИМТ <math><30 \text{ кг/м}^2</math>

У лиц с ожирением такие связи отсутствовали. Это может свидетельствовать о полной разбалансировке функциональных связей активности Veslin-1 и содержанием воды у лиц с ИМТ  $\geq 30 \text{ кг/м}^2$ .

Оптимальным содержание общей воды, при котором наблюдается физиологические уровни активности Veslin-1, являются 32,0-36,0кг (45%-51%). Для внеклеточной жидкости такой диапазон (Рисунок 3.1.8) устанавливается в пределах 11,0-16,0 кг (16%-23%). Важно отметить то, что после проведения КОП выявленные связи уже не определялись. Этот факт возможно связан с небольшой продолжительностью КОП, а также индивидуальными режимами потребления, потери жидкости и интенсивностью аутофагии.

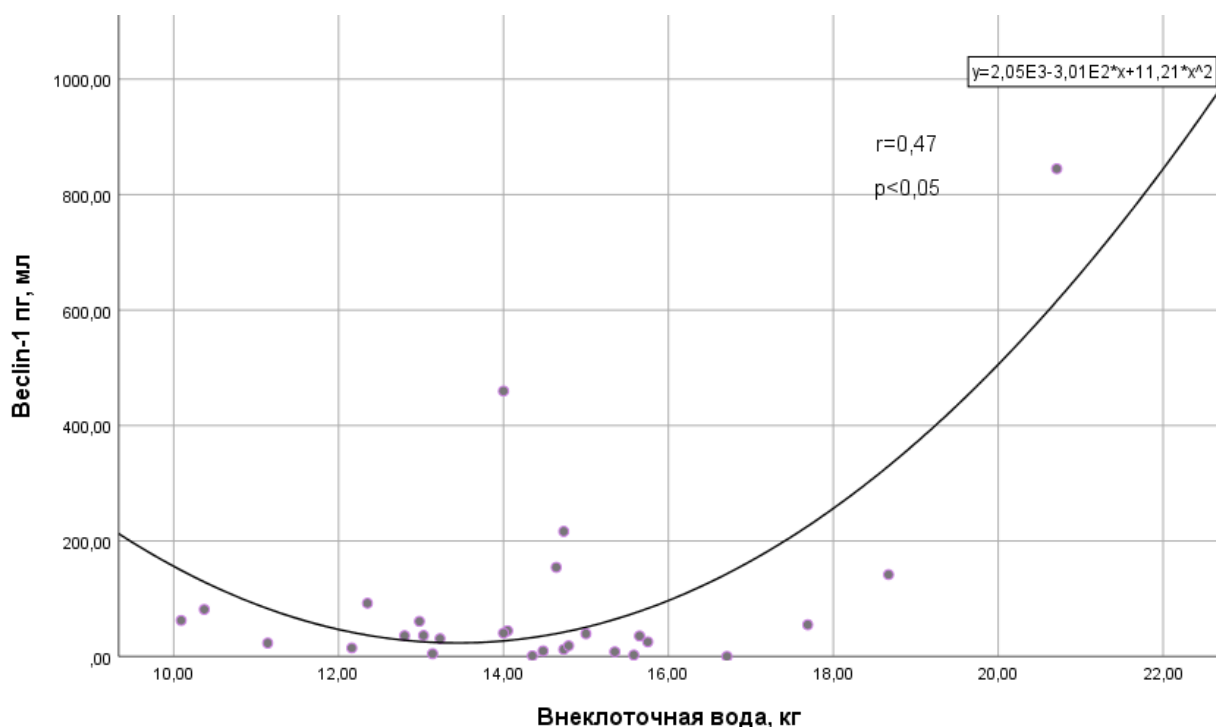


Рисунок 3.1.7 - График корреляционной зависимости между содержанием внеклеточной воды и Veslin-1 до КОП у лиц с ИМТ <30 кг/м<sup>2</sup>

Отсутствие и потеря корреляционных связей после КОП, вероятно, связаны с разной интенсивностью аутофагии у каждого пациента на этапе ограничения калорийности питания.

Представляло интерес проанализировать связь между общеклиническими показателями крови и уровнем Veslin-1 (Таблица 3.1.5).

Как видно из Таблица 3.1.5 корреляционных связей между исследуемыми параметрами выявить не удалось.

Таблица 3.1.5 - Корреляционная зависимость между показателями клинического анализа крови и Veslin-1 до КОП в группе с различным ИМТ (интервал 5%-95%)

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции						Индекс интоксикации
	Эрит.	Гемоглобин	Лейк.	Эозин.	Лимф.	СОЭ	
Вся группа (n=77)	-0,07	-0,16	0,09	0,12	-0,14	0,09	0,13
ИМТ <30 (n=24)	-0,15	-0,14	-0,05	0,03	-0,27	-0,04	0,05

ИМТ $\geq 30$ (n=53)	-0,04	-0,18	0,14	0,16	-0,07	0,14	0,15
-------------------------	-------	-------	------	------	-------	------	------

Примечание: Эрит. – эритроциты; Лейк. – лейкоциты; Эозин. – эозинофилы; Лимф. – лимфоциты.

Не менее интересным был вопрос о возможной связи интенсивности аутофагии и липидного спектра (Таблица 3.1.6).

Таблица 3.1.6 - Корреляционная зависимость между показателями липидного спектра и концентрацией Veslin -1 в межквартильном интервале 5%-95%

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции до лечения			
	До КОП			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=77)	0,13	0,04	0,09	-0,15
ИМТ <30 (n=24)	0,05	0,26	0,04	-0,19
ИМТ $\geq 30$ (n=53)	0,15	-0,08	0,11	-0,12
	После КОП			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
	Вся группа (n=65)	-0,08	0,34*	-0,03
ИМТ <30 (n=23)	-0,2	0,36	0,07	-0,37
ИМТ $\geq 30$ (n=42)	-0,03	0,33	-0,09	-0,26

Примечание: \* - Корреляция значима на уровне 0,05.

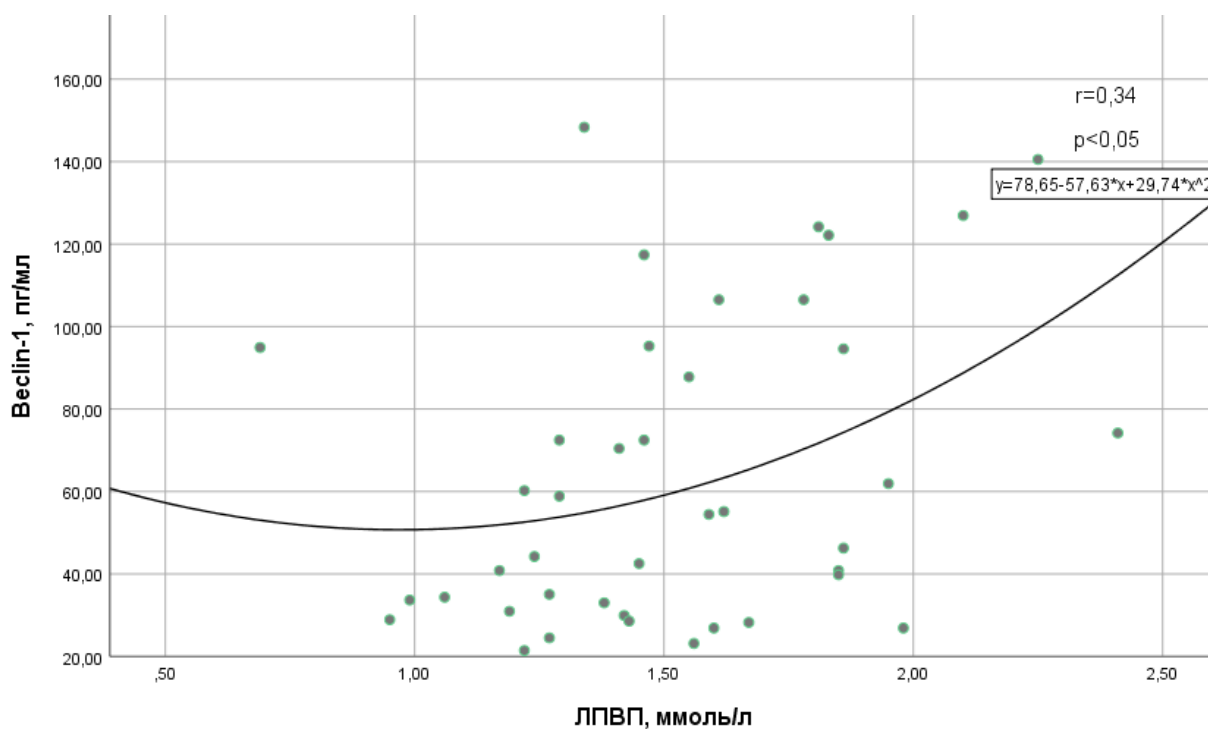


Рисунок 3.1.8 - График корреляционной зависимости между ХС ЛПВП и Veslin-1 после КОП во всей обследуемой группе

Как показал данный анализ, выявлялась достоверная, но слабая корреляционная зависимость между уровнями ХС ЛПВП и Veslin-1 после КОП (Таблица 3.1.6.). Как видно из графика (Рисунок 3.1.8.) оптимальная активность Veslin-1 в диапазоне 20,0-125,0 пг/мл соответствует концентрации ХС ЛПВП от 1,2 до 1,9 ммоль/л. Возможно, что поддержание активности беклина-1 на данном уровне способствует удержанию уровня ХС ЛПВП в указанных физиологических пределах.

Далее, были проанализированы уровни Veslin-1 в зависимости от возраста, ИМТ, морфофизиологических и биохимических параметров в различных группах (Таблица 3.1.7.-3.1.8).

Таблица 3.1.7 - Сравнительный анализ уровня Веслин-1 у лиц с различными гендерными и морфофизиологическими показателями в межквартильном интервале 5%-95%

Исследуемые группы	Статистические значения Веслин-1 (пг/мл)						
	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
	До КОП						
Пол мужской (n=18)	39,91	30,39	7,16	28,02	6,16	114,49	0,015
Пол женский (n=58)	81,86	90,99	11,94	51,63	6,47	459,70	
Возраст до 60л (n=54)	77,2	86,2	11,7	53,0	6,1	459,7	0,3
Возраст после 60л (n=23)	62,5	73,7	15,4	39,3	6,5	330,2	
ИМТ <30 (n=24)	72,2	96,9	19,8	37,8	8,1	459,7	0,6
ИМТ $\geq$ 30 (n=53)	73,1	76,0	10,4	57,6	6,1	371,8	
Глюкоза крови <5,5 ммоль/л (n=56)	76,9	92,7	12,4	40,3	6,1	459,7	0,5
Глюкоза крови $\leq$ 5,5 ммоль/л (n=21)	62,0	45,0	9,8	51,9	7,1	216,6	
После КОП							
Пол мужской (n=17)	70,2	39,4	9,5	58,9	21,1	148,3	0,4
Пол женский (n=48)	76,3	54,0	7,8	61,1	23,1	260,6	
Возраст до 60л (n=44)	80,9	56,8	8,6	64,5	21,1	260,6	0,4
Возраст после 60л (n=21)	61,7	30,2	6,6	58,9	25,4	148,3	
ИМТ <30 (n=29)	67,9	44,6	8,28	56,4	21,1	217,7	0,4
ИМТ $\geq$ 30 (n=36)	80,2	54,5	9,1	63,4	21,4	260,6	
Глюкоза крови > 5,5 ммоль/л (n=56)	71,5	48,7	6,5	57,8	19,7	160,6	0,8
Глюкоза крови $\leq$ 5,5 ммоль/л (n=16)	74,2	52,0	13,0	49,7	23,1	183,4	

В результате сопоставления данных по массе тела достоверных различий в межквартильном интервале 5%-95% обнаружено не было (Таблица 3.1.7), однако гендерные отличия заключались в более высоких исходных показателях уровня беклина-1 у женщин. Для более углубленного анализа была предпринята попытка анализа в межквартильном интервале 25-75% (Таблица 3.1.8.).

Таблица 3.1.8 - Сравнительный анализ уровня Веслин-1 и морфофизиологическими показателями до КОП в межквартильном интервале 25-75% (U-критерий Манна-Уитни)

Исследуемые группы	Статистические значения Веслин-1 (пг/мг)						
	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Пол мужской (n=11)	36,3	17,6	5,3	30,8	18,5	68,4	0,037
Пол женский (n=32)	51,9	21,5	3,8	49,4	23,2	94,1	
Возраст до 60л (n=30)	53,2	22,3	4,1	53,0	23,5	94,1	0,012
Возраст после 60л (n=11)	34,7	11,0	3,3	35,5	20,3	51,7	
ИМТ <30 (n=13)	35,1	13,3	3,7	35,5	14,6	60,8	0,007
ИМТ $\geq$ 30 (n=27)	54,1	22,2	4,3	51,7	30,8	68,4	
Глюкоза крови >5,5 ммоль/л (n=31)	43,9	22,8	4,1	35,8	18,5	92,1	0,1
Глюкоза крови $\leq$ 5,5 ммоль/л (n=12)	55,0	13,7	4,0	55,1	36,3	76,0	
После КОП							
Пол мужской (n=12)	63,8	21,4	6,2	57,8	40,8	106,5	0,5
Пол женский (n=18)	59,3	20,4	3,8	54,8	33,0	94,9	
Возраст до 60л (n=28)	68,4	27,5	5,2	59,4	35,1	120,8	0,04
Возраст после 60л (n=11)	50,2	13,2	4,0	54,4	33,0	70,4	
ИМТ <30 (n=19)	52,4	19,5	4,5	52,4	28,6	89,1	0,04
ИМТ $\geq$ 30 (n=22)	66,9	23,7	5,1	61,1	37,1	117,4	
Глюкоза крови >5,5 ммоль/л (n=32)	60,8	18,8	3,3	57,8	35,1	100,0	0,2
Глюкоза крови $\leq$ 5,5 ммоль/л (n=8)	51,5	23,7	8,4	42,0	31,0	94,9	

Как видно из Таблица 3.1.8. в межквартильном диапазоне 25-75% статистически значимые различия обнаружены между показателями уровня Веслин-1 в группах до- и после 60 лет и между групп с ИМТ до- и после 30 кг/м<sup>2</sup>. Концентрация беклина-1 оказалась исходно выше у лиц с ИМТ более 30кг/м<sup>2</sup>, а также у лиц в возрасте менее 60лет. Закономерности, отмеченные до применения КОП, сохранялись и после применения КОП, за исключением гендерных различий:

концентрация беклина-1 после КОП находилась на одном уровне у мужчин и женщин, хотя до КОП уровень беклина-1 у мужчин был значительно и достоверно ниже. Из Таблица 3.1.8. можно видеть, что отсутствие этих различий обусловлены слабой реакцией активации аутофагии у женщин, но значительной активацией у мужчин. В результате такого соотношения концентрации у мужчин и женщин приближались к одинаковым значениям.

У мужчин базовый уровень концентрации беклина-1 значительно уступал таковому у женщин. При анализе данных в межквартильном интервале 25%-75% были выявлены достоверные различия еще по ряду исследуемых показателей. Во всей исследуемой группе у лиц до 60 лет концентрация беклина-1 также превосходила концентрацию у лиц после 60 лет ( $p < 0,012$ ).

Аналогичные различия выявлены и по ИМТ: у лиц с ИМТ  $< 30$  кг/м<sup>2</sup> концентрация беклина-1 оказалась достоверно ниже, чем у лиц с ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>.

Дальнейший анализ в межквартильном (25-75) интервале после КОП показал значительную активацию аутофагии у мужчин ( $p < 0,003$ ) и отсутствие таковой у женщин ( $p < 0,2$ ). Это нивелировало разницу в показателях у мужчин и женщин после КОП.

Рассматривая данные в возрастном аспекте, можно отметить достоверный рост уровня беклина-1 как у лиц до 60 лет, так и после 60 лет. При этом в возрасте до 60 лет уровень беклина-1 превосходил показатели у лиц после 60 лет ( $p < 0,04$ ). Обращает на себя внимание значительное увеличение после КОП уровня беклина-1, относительно исходного, у лиц старше 60 лет.

Оценивая роль фактора веса, можно видеть (Таблица 3.1.8), что у лиц с ИМТ  $< 30$  кг/м<sup>2</sup> концентрация беклина-1 достоверно ( $p < 0,01$ ) увеличивалась. Увеличение концентрации у обследованных с ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> по сравнению с исходными показателями было близко к достоверному ( $p < 0,06$ ), но превосходила уровень беклина-1 у лиц с ИМТ  $< 30$  кг/м<sup>2</sup> после КОП.

Этим фрагментом исследования мы ответили на вопрос о возрастных, гендерных и весовых различиях в уровне активности аутофагии в исходном состоянии и в условиях КОП с ограничением калорийности питания.

В дальнейшем представляло интерес проанализировать данные обследованных, у которых показатели Veclin-1 были ниже и выше межперцентильного интервала 5-95%. Уровень маркера у этой категории лиц колебался от 0,1 до 1014,44 (0; 1,14; 2,42; 4,71; 506,63; 561,16; 844,78; 1014,44). Четверо мужчин и шестеро женщин были в возрасте от 25 до 66 лет с ожирением. При проведении корреляционного анализа между концентрацией Veclin-1 и различными показателями были выявлены достоверные связи между: весом и Veclin-1 ( $p < 0,01$ ), ИМТ и Veclin-1 ( $p < 0,05$ ), жировой массой и Veclin-1 ( $p < 0,05$ ), ХС ЛПВП и Veclin-1 ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.1.9.).

Таблица 3.1.9 - Корреляционные связи между уровнем беклина-1 и исследуемыми параметрами у лиц со значениями уровня беклина-1 лежащими ниже или выше интервала 5%-95%

Исследуемые параметры	Исходные исследуемые параметры (N=10)			
	Вес	ИМТ	Жировая масса	ХС ЛПВП
Коэффициент корреляции	0,78**	0,71*	0,72*	-0,74*

Примечание: \* - корреляция значима на уровне  $p < 0,05$ ; \*\* - корреляция значима на уровне  $p < 0,01$ .

Эти данные свидетельствуют о том, что в интервале значений, лежащих, ниже 5% и выше 95% выявляются связи, отличающихся от закономерностей, выявленных в межперцентильном интервале 5-95% во всей группе. Касается это показателей жировой массы и ХС ЛПВП (Таблица 3.1.9.). По всей вероятности, очень низкие и очень высокие показатели Veclin-1 следует рассматривать, как вариант патологии. Эти показатели прямо коррелировали с весом, ИМТ, жировой массой и обратно коррелировали с ХС ЛПВП. В диапазоне очень низких и очень высоких значений беклина-1, концентрация ХС ЛПВП отрицательно коррелировала с уровнем беклина-1.

Большой интерес представляли сведения о соотношении калорийности питания и активностью Veclin-1 на фоне проведения КОП (3.1.10).



Таблица 3.1.10 - Корреляционная связь между исследуемыми параметрами тела и уровнем беклина-1 у лиц с различной величиной потребления калорий в процессе КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции								
	Возраст и состав тела после КОП								
	Возраст	Вес	ИМТ	М.М.	Т.М.	Ж.М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Ккал ≤800 (n=27)	-0,61**	-0,16	0,02	-0,17	-0,17	0,01	-0,06	-0,04	-0,2
Ккал >800 (n=38)	-0,14	0,42**	0,36*	0,03	0,03	0,37*	0,03	-0,04	0,08

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

С увеличением возраста у лиц, получающих 800 ккал/сутки и менее, активность маркера достоверно уменьшалась ( $p < 0,01$ ). Если пациенты получали более 800 ккал/сутки, то возраст уже не играл значение, а существенными факторами становился вес, ИМТ, жировая масса. Основываясь на этих данных, можно предположить, что более физиологичным подходом в оздоровительной программе является диета с суточным калоражем более 800 ккал/сут.

Таблица 3.1.11 - Корреляционная связь между показателями липидного спектра и уровнем Beclin-1 в группах ≤800ккал/сутки и >800 ккал/сутки после КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Ккал ≤800(n=27)	-0,35	0,66**	-0,1	-0,23
Ккал >800(n=38)	0,13	0,06	-0,01	-0,34*

Примечание: \*\* - корреляция значима на уровне  $p < 0,05$ ; \* - корреляция значима на уровне  $p < 0,01$ .

Сложность взаимоотношений липидного спектра и активности аутофагии демонстрирует Таблица 3.1.11. Как видно из Таблица 3.1.11. более жесткие и высоко достоверные связи устанавливались между уровнем ХС ЛПВП и беклином-1 у лиц, получавших менее 800 ккал/сутки. При этом следует заметить, что абсолютные значения концентрации беклина-1 не различались (Таблица 3.1.12.). Исходя из этого можно сделать вывод о том, что для коррекции ХС ЛПВП

предпочтительней диета с калорийностью менее 800 ккал/сутки, хотя выше мы признали то, что диета с калорийностью более 800 ккал/сут является более физиологичной.

Таблица 3.1.12 - Сравнение показателей концентрации Veclin-1 у лиц с различным по калорийности суточным рационом в общей группе

№ группы	Исследуемая группа	Статистические показатели			
		М ср.	$\sigma$	$m_0$	Достоверность
1.	Ккал $\leq$ 800(n=27)	77,3	55,8	10,3	0,7
2.	Ккал $>$ 800(n=38)	72,6	46,1	7,7	

Возвращаясь к таблице 3.1.10. следует еще раз подчеркнуть о наличие отрицательной корреляционной связи у лиц потребляющих менее 800 ккал/сут. между уровнем Veclin-1 и возрастом ( $r = -0,61$ ;  $p < 0,01$ ), а у лиц потребляющих более 800 ккал/сут, выявлены положительные связи между уровнем Veclin-1 и весом ( $r = 0,42$ ;  $p < 0,05$ ), ИМТ ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,05$ ) и жировой массой ( $r = 0,37$ ;  $p < 0,05$ ).

Еще раз подтверждается практический вывод о том, что более физиологичным является суточный калораж  $>800$  ккал/сут. В этом случае потеря веса будет менее интенсивной, но процесс аутофагии более эффективным.

Однако, для получения эффекта коррекции ХС ЛПВП более предпочтителен калораж  $<800$  ккал/сут., а для коррекции триглицеридов – калораж в диапазоне 800-1200 ккал/сут. Можно думать о том, что открываются возможности целенаправленного воздействия с помощью ограничения калорийности питания на физиологические параметры и аутофагию.

Разнонаправленность эффектов ограничения калорийности, возможно, связано с разными механизмами синтеза и обмена различных липидных соединений. Важно отметить, что эти изменения не выходят за рамки нормы, о чем свидетельствует отсутствие статистических различий концентрации Veclin-1 в анализируемых группа (Таблица 3.1.12.).

Представляло интерес оценить реакцию Veclin-1 на КОП в зависимости от исходного его уровня. Для этого был введен коэффициент «дельта» с соответствующим знаком (+ или -). Соответственно, были выделены 2 группы, у

которых в одних случаях уровень Веслин-1 увеличивался (дельта +), а в других случаях уменьшался (дельта -) в сравнении с исходным значением.

Следует отметить, что из всей группы пациентов (77 человек), включенных в анализ, подъем уровня беклина-1 после КОП отмечен у 49 человек (63,6%), а снижение у 28 человек (36,4 %) (Рисунок 3.1.8.).

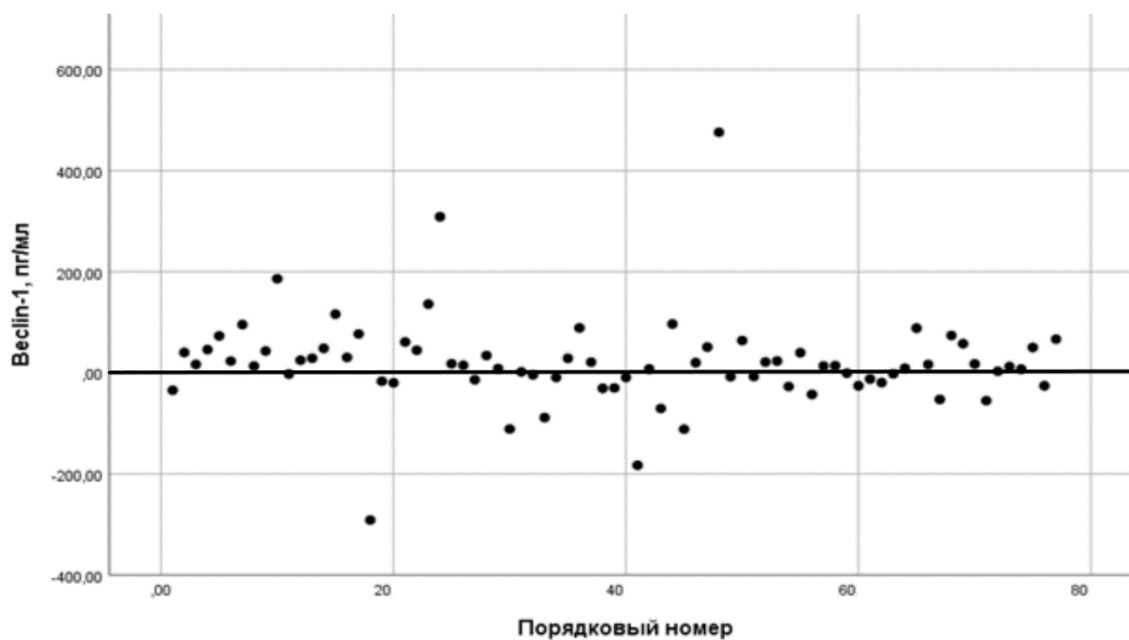


Рисунок 3.1.9 - Диаграмма рассеяния показателя «дельты-беклина-1» (%) после КОП во всей группе

Анализируя реакцию беклина-1 с общеклиническими анализами крови до КОП были выявлены следующие закономерности (Таблица 3.1.13.).

У тех обследованных, у которых уровень беклина-1 повышался (положительная дельта), была выявлена достоверная отрицательная корреляционная связь с концентрацией гемоглобина ( $r = -0,28$ ;  $p < 0,05$ ) и положительная с количеством сегментоядерных нейтрофилов ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ). У обследованных с понижением уровня беклина-1 корреляционных связей не выявлялось.

Таблица 3.1.13 - Корреляционная зависимость между дельтой Veslin-1 и количеством форменных элементов до КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции								
	Общеклинические показатели крови до КОП								
	Эрит.	Гем.	Лейк.	Баз.	Нейт. С.	Лимф.	Мон.	СОЭ	И.И.
Дельта «+» (n=49)	-0,12	-0,29*	0,006	-0,26	0,28*	-0,24	-0,15	-0,06	0,007
Дельта «-» (n=28)	0,05	0,05	-0,06	-0,28	0,12	0,11	-0,13	-0,13	-0,18

Примечание: Эрит. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Нейт. С. – нейтрофилы сегментоядерные; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; И.И. – индекс интоксикации\* - Корреляция значима на уровне 0,05.

Таблица 3.1.14 - Сравнительный анализ уровня Veslin-1 (пг/мл) у пациентов с разной направленностью (дельтой) изменений концентрации (+/-) по отношению к исходному

№ группы	Исследуемая группа	Статистические показатели			
		М ср.	$\sigma$	$m_0$	P
1.	Вся группа (n=77)	72,8	82,4	9,4	$P_{1-2}>0,5$ $P_{1-3}>0,5$
2.	С положительной $\Delta$ (n=49)	114,6	212,9	30,4	$P_{2-1}>0,5$ $P_{2-3}>0,5$
3.	С отрицательной $\Delta$ (n=28)	99,3	155,3	29,3	$P_{3-1}>0,5$ $P_{3-2}>0,5$

Среднестатистические показатели сравниваемых групп у лиц с отрицательной дельтой беклина-1 и положительной оказались не достоверны (Таблица 3.1.14.).

Таким образом, комплексная оздоровительная программа с ограничением калорийности питания вызывала разнонаправленную реакцию активности Veslin-1, как в сторону повышения концентрации, так и в сторону ее снижения. В связи с этим дальнейший анализ был построен по группам в зависимости от реакции Veslin-1: группы с повышением уровня Veslin-1 и понижением уровня после КОП.

Таблица 3.1.15 - Корреляционный анализ между беклином-1 в группах с положительной и отрицательной дельтой и морфофизиологическими параметрами до- и после проведения КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции								
	Возраст и состав тела до КОП								
	Возраст	Вес	ИМТ	М.М.	Т. М.	Ж.М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Дельта «+» (n=49)	0,02	0,16	0,23	-0,16	-0,16	0,22	-0,16	-0,2	-0,12
Дельта «-» (n=28)	-0,4*	0,19	-0,01	0,35*	0,35*	-0,01	0,35*	0,48**	0,23
Возраст и состав тела после КОП									
Дельта «+» (n=49)	0,008	0,25*	0,3*	-0,16	-0,16	0,27*	-0,14	-0,13	-0,15
Дельта «-» (n=28)	-0,35*	0,05	-0,14	0,3	0,30	-0,13	0,3	0,38*	0,17

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

Дальнейший анализ показал, что у лиц, реагирующих на КОП снижением уровня Beclin-1, в исходном состоянии между уровнем Beclin-1 и исследуемыми параметрами выявлены отрицательные связи с возрастом ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,05$ ) и положительные с мышечной ( $r = 0,35$ ;  $p < 0,05$ ), тощей массой ( $r = 0,35$ ;  $p < 0,05$ ) и внеклеточной водой ( $r = 0,48$ ;  $p < 0,01$ ) (3.1.10-3.1.11). У лиц с положительной дельтой таких взаимосвязей выявлено не было (Рисунок 3.1.12, 3.1.13).

После КОП у лиц с подъемом уровня Beclin-1 (положительная дельта) выявлены положительные корреляционные связи между уровнем Beclin-1 и весом ( $r = 0,25$ ;  $p < 0,05$ ), ИМТ ( $r = 0,3$ ;  $p < 0,05$ ) и жировой массой ( $r = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ).

У лиц, у которых отмечалось снижение уровня Beclin-1 после КОП, выявлялись отрицательная корреляционная связь между Beclin-1 и возрастом ( $r = -0,35$ ;  $p < 0,05$ ) и положительная с внеклеточной водой ( $r = 0,38$ ;  $p < 0,05$ ).

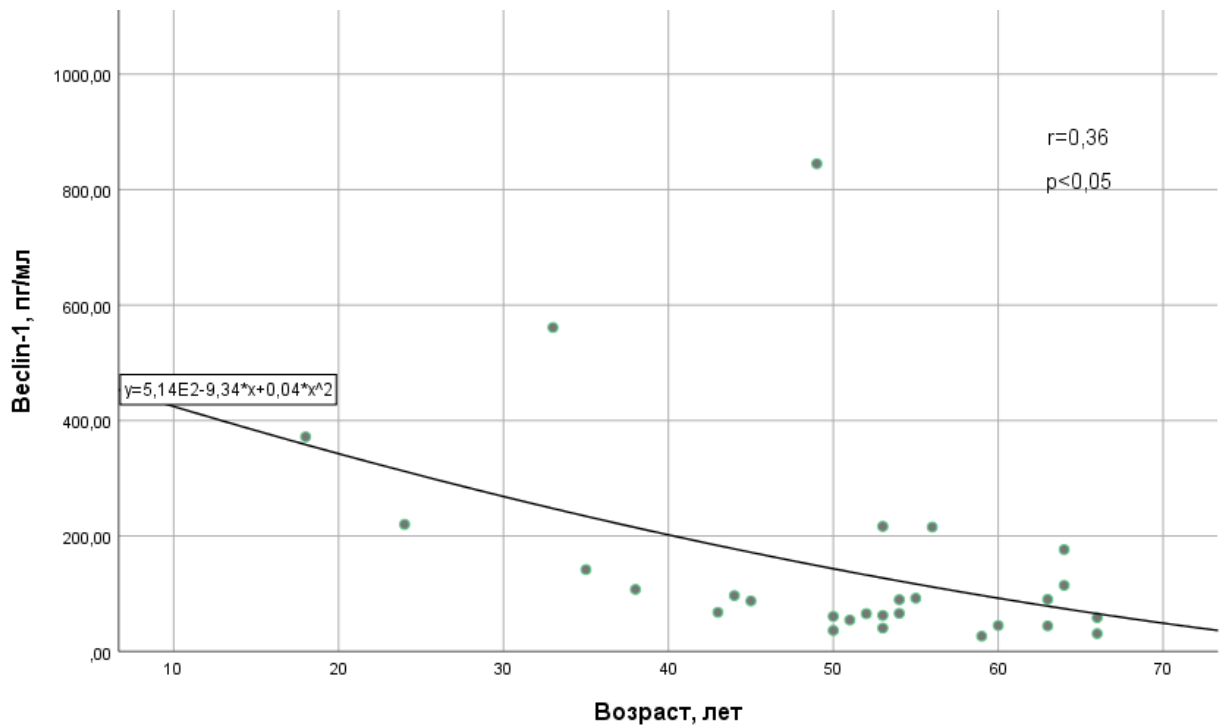


Рисунок 3.1.10 - График корреляционной зависимости между возрастом и Veslin-1 у лиц с отрицательной дельтой до КОП

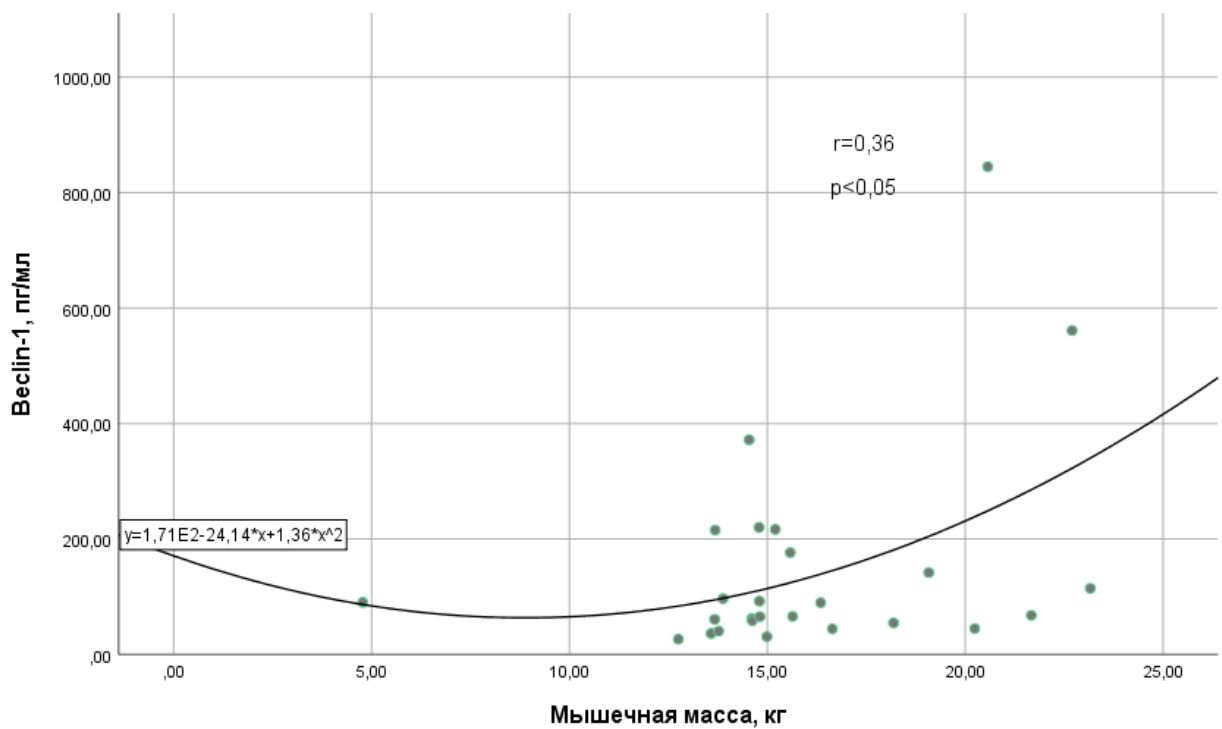


Рисунок 3.1.11 - График корреляционной зависимости между мышечной массой и Veslin-1 у лиц с отрицательной дельтой до КОП

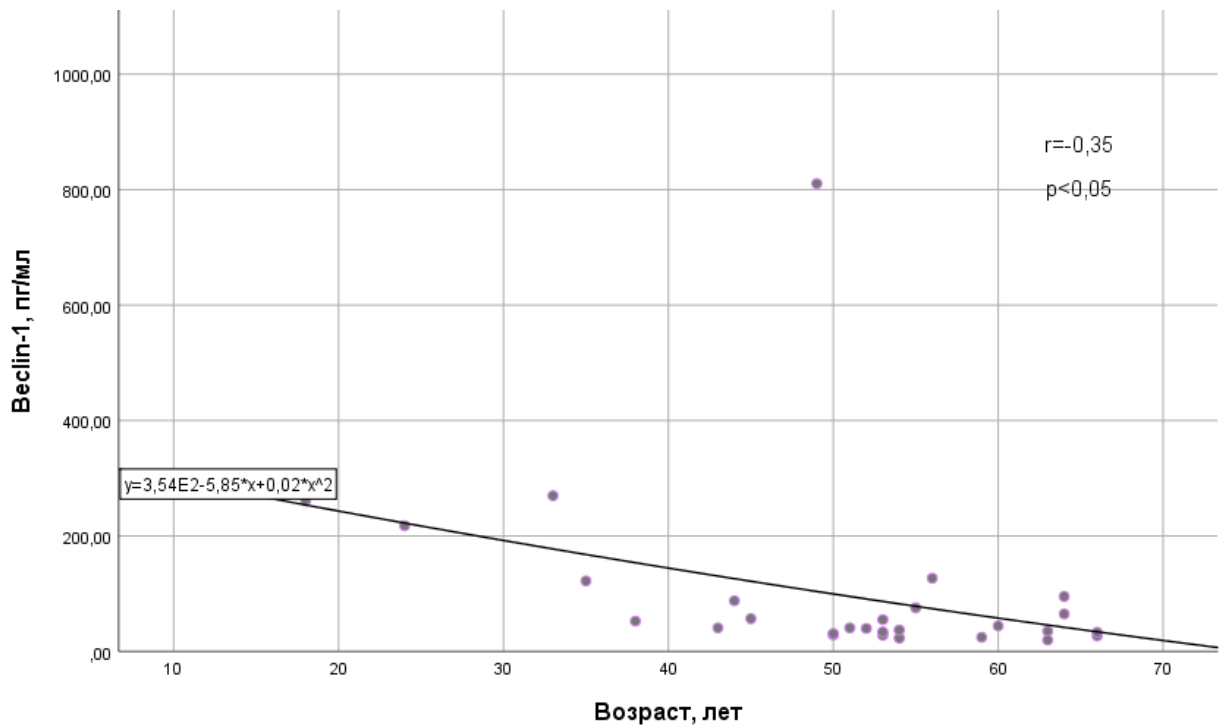


Рисунок 3.1.12 - График корреляционной зависимости между возрастом и Veslin-1 у лиц с отрицательной дельтой после КОП

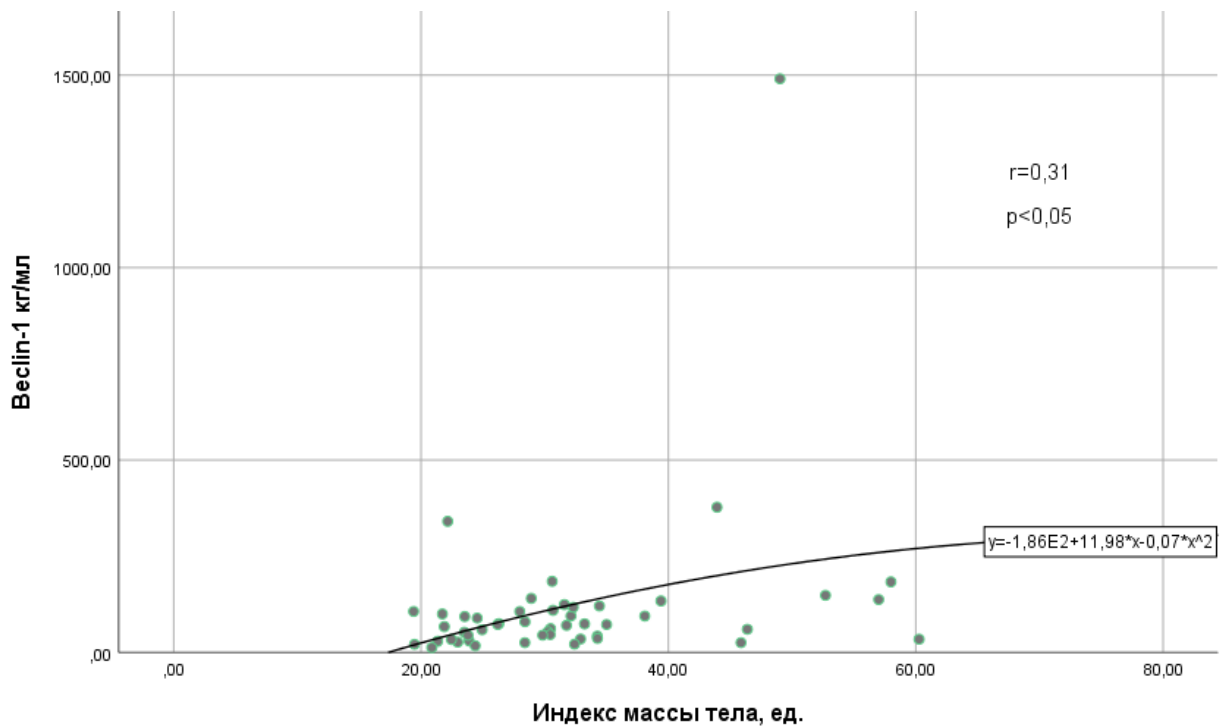


Рисунок 3.1.13 - График корреляционной зависимости между ИМТ и Veslin-1 у лиц с положительной дельтой после КОП

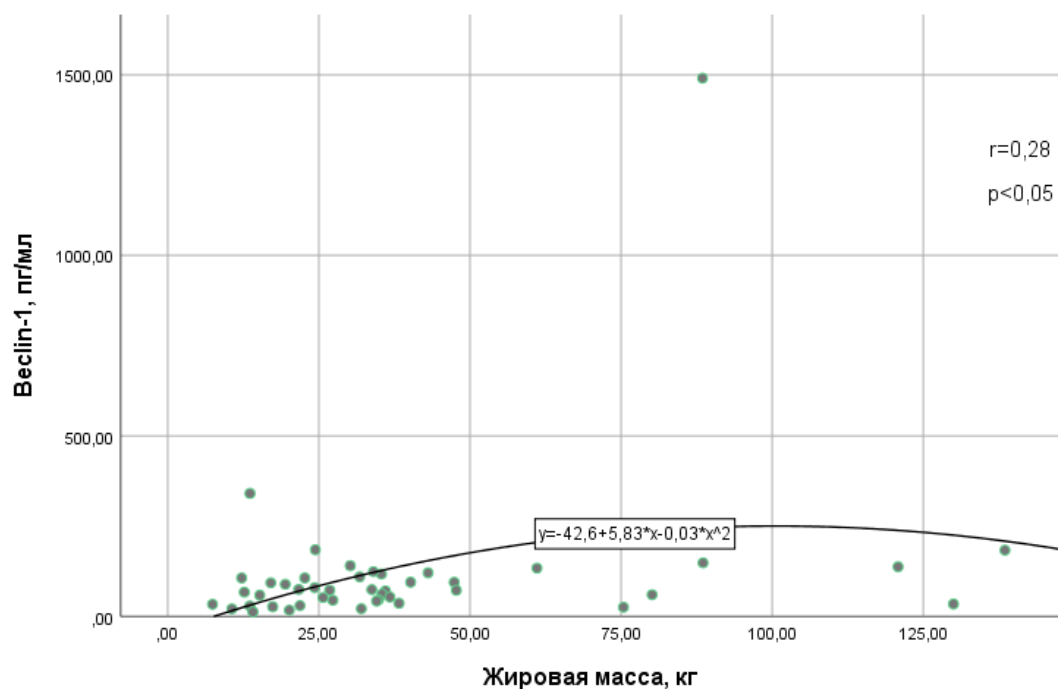


Рисунок - 3.1.14. Корреляция между жировая масса и Veslin-1 у лиц с положительной дельтой после КОП

Важным элементом анализа следует считать оценку реакции беклина-1 во взаимосвязи с реакцией липидного спектра (Таблица 3.1.16.)

Таблица 3.1.16 - Корреляционные связи между показателями «дельта» по Veslin-1 и показателями липидного спектра

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	Липидный спектр до КОП			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Положительная дельта (n=49)	0,007	-0,13	-0,05	-0,08
Отрицательная дельта (n=28)	-0,18	-0,23	-0,38*	-0,17
Липидный спектр после КОП				
Положительная дельта(n=49)	-0,06	-0,12	-0,12	-0,02
Отрицательная дельта(n=28)	-0,3	0,2	-0,26	-0,31



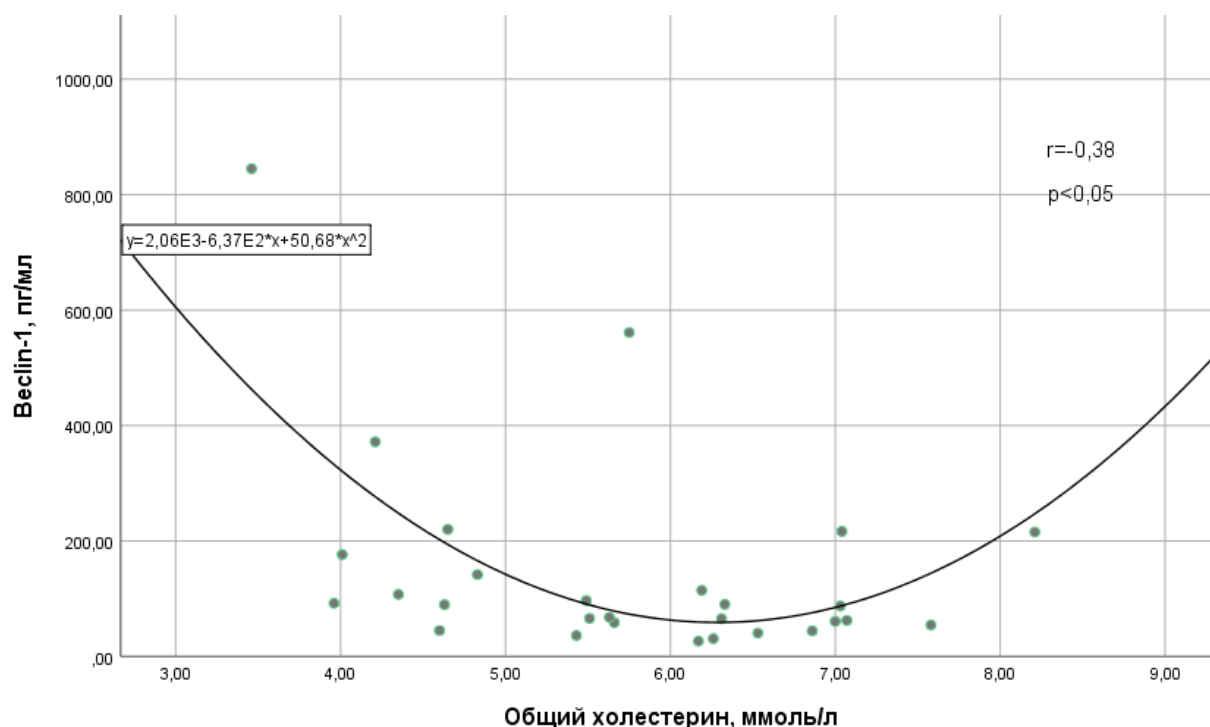


Рисунок 3.1.15 - График корреляционной зависимости между общим холестерином и Veslin-1 с отрицательной дельтой до КОП

Корреляционная связь до КОП с уровнем общего холестерина выявлялась в группе с отрицательной дельтой, причем сама связь оказалась отрицательной ( $r = -0,38$ ;  $p < 0,05$ ). Другими словами, чем ниже была концентрация Veslin-1, тем выше оказывался уровень холестерина. По остальным параметрам корреляционная связь не выявилась (Таблица 3.1.16.). Ограничение калорийности питания сопровождалось рассогласованием установленной связи и ее полным исчезновением.

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, были установлены корреляционные связи с рядом морфофизиологических параметров и возрастом, отражающие общие тенденции изменений в активности Veslin-1.

Комплексная оздоровительная программа и ограничение калорийности питания по-разному сказывалось на соотношении компонентов тела и уровнем Veslin-1. Если до КОП выявлялись достоверные положительные корреляционные связи у лиц с ИМТ  $< 30 \text{ кг/м}^2$  между уровнем Veslin-1 и массой тела, тощей массой, общей и внеклеточной жидкостью, то после КОП эти взаимосвязи уже не

выявлялись. Такой факт может свидетельствовать о неоднотипности реакции Veclin-1 на ограничение калорийности питания, либо о разнонаправленности реакций на КОП.

Таким образом, результаты общеклинических и биохимических анализов крови показали прямую достоверную ( $r= 0,34$ ;  $p < 0,05$ ) корреляционную связь между ХС ЛПВП и Veclin-1. Можно предположить, что ограничение калорийности приводит однонаправленному изменению ХС ЛПВП и активности Veclin-1; повышение уровня Veclin-1 сопровождается и повышением фракции ХС ЛПВП, и снижением уровня общего холестерина. Возможно, это одно из звеньев антиатеросклеротического действия гипокалорийного питания. Статистический анализ уровней Veclin-1 в различных группах показал отсутствие статистической разницы. Причем, это не определялось, как в межперцентильном интервале 5-95%, так и в межквартильном интервале 25-75%.

Наличие разнонаправленных изменений в уровне Veclin-1 позволил проанализировать 2 основные группы обследованных; с повышением и с понижением уровня Veclin-1 по отношению к исходному. Оказалось, что у лиц, у которых после проведения КОП наблюдалось уменьшение концентрации Veclin-1 выявлялись достоверные корреляционные связи с возрастом (отрицательная связь). В группе, у которых отмечалось повышение концентрации Veclin-1 выявлена положительная корреляционная связь с весом, ИМТ и жировой массой. Следовательно, ограничение питания сопровождается у 28 (36,4%) из 77 обследованных снижением уровня Veclin-1 до значений, не отличающихся достоверно от значений во всей совокупности. Кроме того, у лиц с положительной дельтой в исходном состоянии отмечена отрицательная корреляционная связь с уровнем гемоглобина и положительная с количеством нейтрофилов. У лиц, у которых отмечено снижение уровня беклина-1 после КОП, в исходном состоянии таких связей с показателями крови не выявлялось.

В липидном спектре у лиц, у которых в перспективе отмечалось уменьшение концентрации Veclin-1, в исходном состоянии выявлена умеренная достоверная отрицательная корреляционная связь между концентрацией общего холестерина и

Beclin-1. Отсутствие статистической разницы между этими двумя группами свидетельствует о нормализации показателей уровня Beclin-1 и достижения среднестатистического уровня, не зависящих от типа реакции на ограничение калорийности питания. Однако, в этих взаимосвязях важна направленность физиологических реакций. Они в многом определяют дальнейший ход событий.

### **3.2. Результаты исследования активности беклина-1 после КОП и полной пищевой депривации**

Исследуемая группа составила 31 человек, из них 9 мужчин и 22 женщины, в возрасте от 21 до 66 лет. Продолжительность пищевой депривации составила 1-12 дней. Среднее значение уровня беклина-1 до начала курса КОП составило 75,0 пг/мл, стандартная ошибка средней -  $\pm 21,7$  пг/мл, стандартное отклонение –  $\pm 120,6$  пг/мл, медиана – 27,5 пг/мл, минимум – 1,14 пг/мл, максимум – 561,16 пг/мл. Повтор анализа производили на 12 день прибывания, при этом среднее значение уровня беклина-1 составило 82,0 пг/мл, стандартная ошибка средней -  $\pm 11,7$  пг/мл, стандартное отклонение –  $\pm 65,1$  пг/мл, медиана – 61,9 пг/мл, минимум – 24,5 пг/мл, максимум – 269,8 пг/мл. В связи с большим разбросом показателей уровня беклина-1 был выбран межперцентильный интервал 5-95%. В группу вошло 28 человек. Исходя из поставленных задач был проведен сравнительный анализ до- и после лечебного голодания в разных группах (Таблица 3.2.1).

Как видно из представленной таблицы достоверный подъем уровня беклина-1 отмечен у лиц старше 60 лет. Был интерес провести корреляционный анализ между уровнем концентрации беклина-1 и исходными морфометрическими показателями. (Таблица 3.2.2.).

Таблица 3.2.1 - Сравнительный анализ до- и после курса полной пищевой депривации

Группы	Возраст	Концентрация беклина-1, пг/мл			P
		М <sub>ср.</sub>	Медиана	СОС	
Вся группа до КОП - 100% (n=31)	все	75,0	27,5	21,7	P <sub>1-2</sub> <0,7 P <sub>1-3</sub> <0,3
Вся группа после КОП-100% (n=31)		82,0	61,9	11,7	
5-95% до КОП (n=28)	все	50,0	27,0	10,8	P <sub>3-4</sub> <0,1 P <sub>4-2</sub> <0,4
5-95% после КОП (n=28)		71,0	58,5	8,4	
5-95% до КОП (n=22)	<60 лет	57,1	29,1	13,3	P <sub>5-6</sub> <0,2
5-95% после КОП (n=22)		77,5	64,5	10,0	
5-95% до КОП (n=6)	>60 лет	22,1	18,8	5,6	P <sub>6-8</sub> <0,1 P <sub>7-5</sub> <0,2 P <sub>7-8</sub> <0,04
5-95% после КОП (n=6)		47,1	38,8	9,0	
Мужчины (5-95%) до КОП (n=8)	все	33,5	21,0	15,7	P <sub>9-10</sub> <0,1 P <sub>9-11</sub> <0,3
Мужчины (5-95%) после КОП (n=8)		64,7	56,0	12,3	
Женщины (5-95%) до КОП (n=20)	все	56,1	33,4	13,7	P <sub>11-12</sub> <0,3 P <sub>10-12</sub> <0,6
Женщины (5-95%) после КОП (n=20)		73,5	58,5	10,8	
Отрицательная дельта (5-95%) (n=11)	все	-20,4	-14,0	4,6	P <sub>13-14</sub> <0,003
Положительная дельта (5-95%) (n=17)		262,8	172,0	67,7	

Таблица 3.2.2 - Корреляционный анализ между уровнем беклина-1 и морфофизиологическими параметрами до- и после проведения КОП в межпроцентильном интервале 5-95%

Параметры	Возраст и состав тела								
	Возраст	Вес	ИМТ	М.М.	Т.М.	Ж.М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Коэффициент корреляции	До КОП (n=28)								
	-0,2	-0,1	0,03	-0,1	-0,1	-0,02	-0,1	-0,2	-0,003
	После КОП (n=28)								
	-0,2	-0,2	-0,02	-0,1	-0,1	0,02	0,05	0,04	-0,1

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

Данный анализ не выявил наличие достоверных корреляционных связей. Далее были проанализированы показатели липидного спектра (Таблица 3.2.3).

Таблица 3.2.3 - Корреляционный анализ между уровнем липидного спектра и беклином-1 до КОП в межперцентильном интервале 5-95%

	Липидный спектр до КОП			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Коэффициент корреляции (n=28)	0,2	0,1	0,2	-0,3

Как показано в Таблица 3.2.3. корреляционный анализ не выявил связей, что повлияло проанализировать наличие корреляционных связей между показателями дельты беклина-1 и морфофизиологическими параметрами.

Анализ степени активности беклина-1 исследовали на 12 сутки после КОП и различных периодов голодания (Рисунок 3.2.1). Следует отметить, что активность определялась не в момент прекращения голодания, а после того, как пациенты проголодали 1-12 дней и вышли на гипокалорийное питание. Исключение составляют пациенты, которые на момент забора крови (12 сутки) продолжали голодать. Оценку активности аутофагии оценивали по разнице (дельта) между концентрацией беклина-1 после КОП на 12 сутки и исходными показателями.

Таблица 3.2.4 - Корреляционный анализ в зависимости от направленности изменений (дельта) концентрации Весlin-1 (+/-) и дельтой исследуемых морфофизиологическими параметрами после проведения КОП на фоне полной пищевой депривации

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции							
	Состав тела после КОП							
	Вес	ИМТ	М.М.	Т.М.	Ж.М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Положительная дельта (n=17)	-0,3	-0,4*	-0,3	-0,3	-0,2	-0,1	0,003	-0,1
Отрицательная дельта (n=11)	-0,2	-0,2	-0,2	-0,1	-0,3	-0,1	-0,2	0,1

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \* - Корреляция значима на уровне  $p < 0,05$

Как показано на Рисунках 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 имеется 2 условных точки на 4-6 сутки и на 11-12 сутки, когда активность аутофагии возрастала.

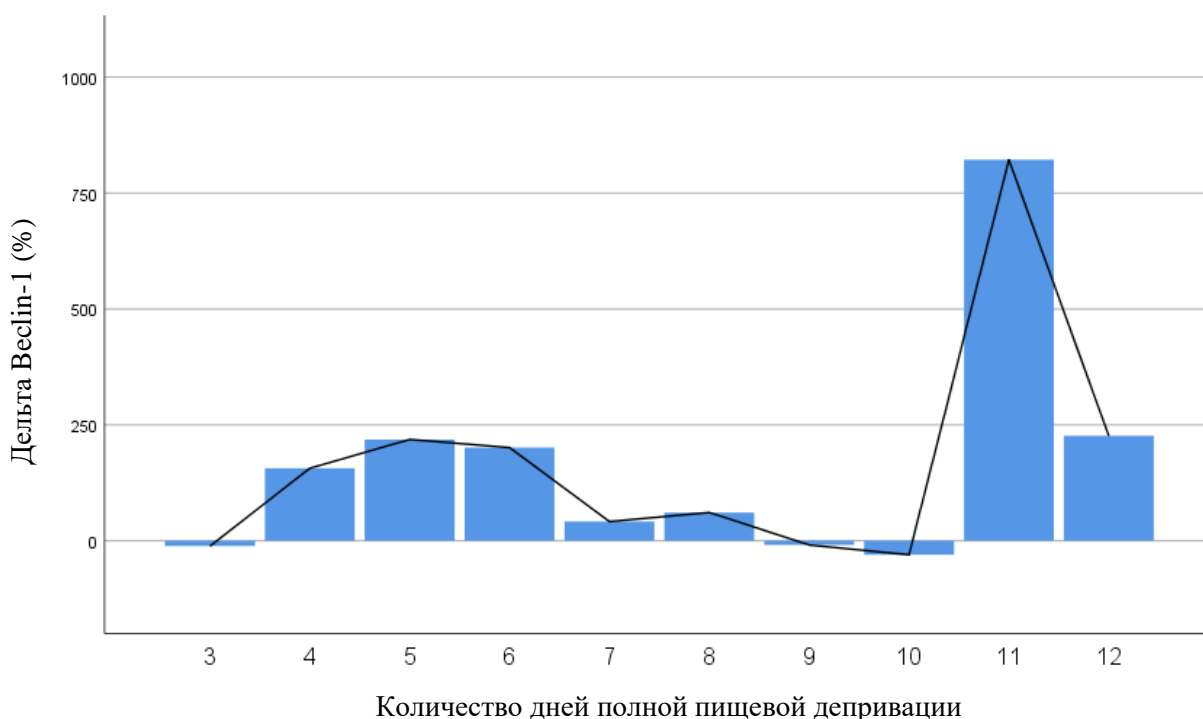


Рисунок 3.2.1 – Гистограмма рассеяния дельты беклина-1 и количества дней полной пищевой депривации

Наибольшая активность отмечена у пациентов, продолжающих к моменту забора крови (на 12 сутки) голодать, либо прекратившие голодание на 11 сутки.

У пациентов, проголодавшим более 9-10 суток концентрация беклина-1 стала даже ниже исходного. Аналогичная картина отмечена у пациентов, проголодавших 3 суток и перешедших на гипокалорийное питание.

На Рисунках 3.2.1 и 3.2.2 можно видеть 2 пика возрастания активности аутофагии у лиц, прекративших голод в день забора крови или за сутки до этого, а также остаточная активность аутофагии спустя 5-8 суток после прекращения лечебного голодания у лиц, голодавших 4-6 суток (Рисунок 3.2.2).

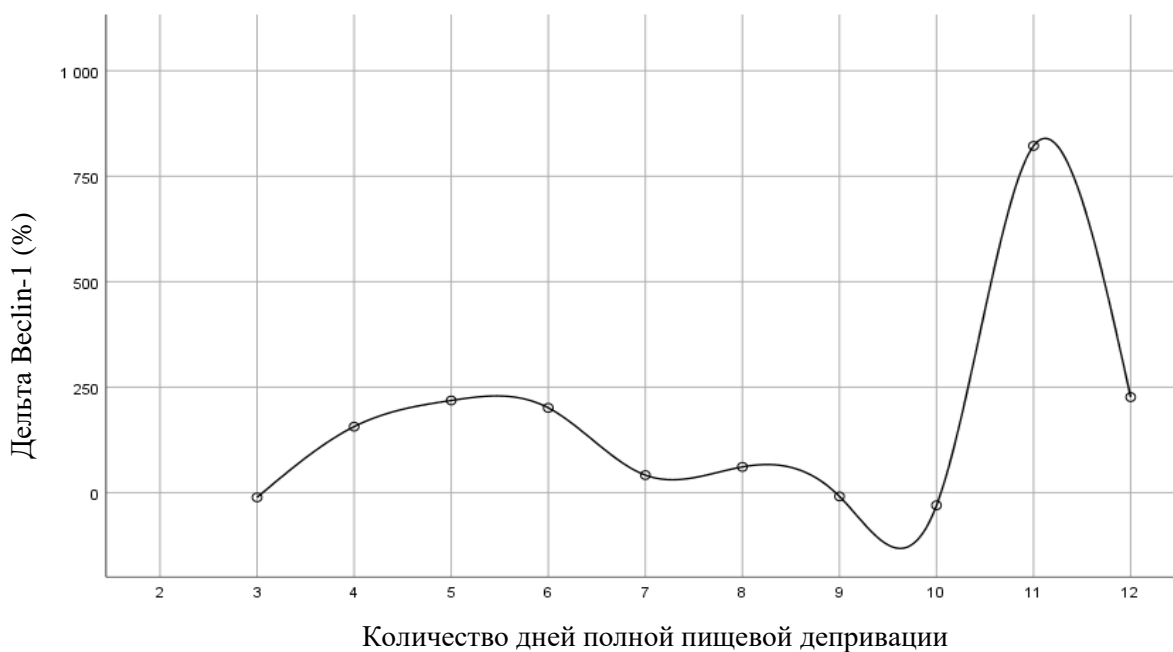


Рисунок 3.2.2 - Усредненная диаграмма дельты беклина-1 и количества дней полной пищевой депривации

При анализе взаимосвязи между потерей жировой массы и уровнем активности аутофагии (дельта беклин-1, %), можно отметить (Рисунок 3.2.3), что активность значительно увеличивается при потере 10-20% жировой массы.

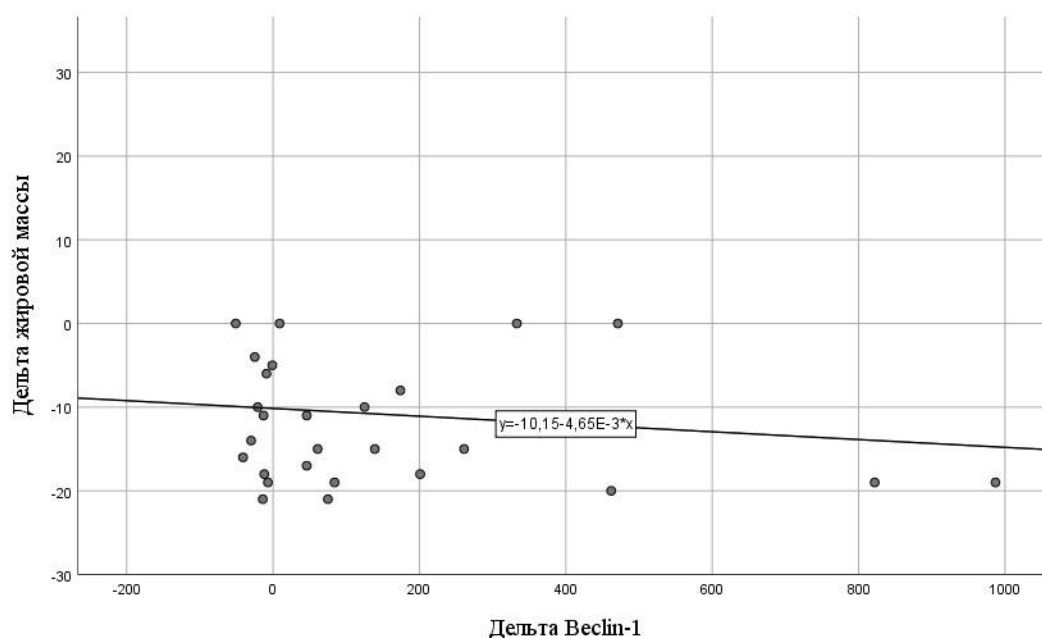


Рисунок 3.2.3 - Диаграмма дельты беклина-1 и дельты жировой массы

### 3.3. Результаты исследования активности аутофагии у мужчин до проведения комплексной оздоровительной программы

В данном разделе проанализированы особенности аутофагии у лиц мужского пола в зависимости от возраста, морфофизиологических параметров и биохимических показателей крови.

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

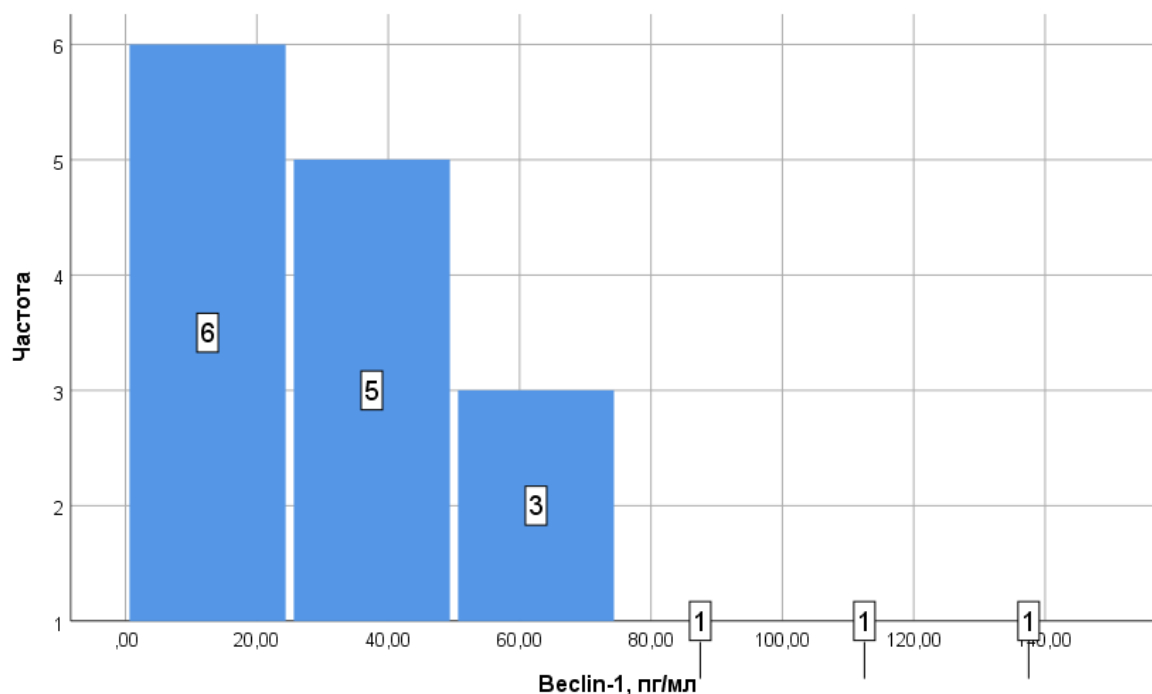


Рисунок 3.3.1 - Частота встречаемости показателей беклина-1 в диапазоне от 0,1 до 140 пг/мл

Как видно на Рисунке 3.3.1, наибольшее количество показателей находилось в диапазоне от 10 пг/мл до 60 пг/мл.



Таблица 3.3.1 – Сравнение концентрации беклина-1 в зависимости от возраста у мужчин

Исследуемые группы/возраст	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I период)	74,1	50,7	25,4	68,1	18,5	141,7	P <sub>1-2</sub> =0,14 P <sub>1-3</sub> =0,37 P <sub>2-3</sub> =0,7
Зрелый (II период)	38,3	28,6	10,1	27,5	9,8	87,4	
Пожилой	45,5	39,8	17,8	35,5	13,2	114,5	

Различий по среднестатистическим данным выявлено не было как в группах с различным возрастом (Таблица 3.3.1), так и в группе с разной массой тела (Таблица 3.3.2).

Таблица 3.3.2 – Сравнение концентрации беклина-1 в зависимости от массы тела у мужчин до КОП

Исследуемые группы	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа	52,1	50,8	22,7	35,5	18,55	141,75	P <sub>1-2</sub> =0,8
Пациенты с ожирением	47,5	35,2	9,9	37,8	9,8	114,5	

Представляло интерес провести корреляционный анализ показателей липидного спектра в зависимости от возраста с уровнем беклина-1 (Таблица 3.3.3) у мужчин.

Таблица 3.3.3 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста у мужчин до КОП

Возрастные группы/возраст	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=17)	0,03	-0,15	0,12	0,25
Зрелый (I период)	0,5	-0,61	-0,27	-0,12
Зрелый (II период)	-0,17	-0,63*	0,07	0,65*
Пожилой	0,32	0,88	0,49	0,31

Примечание: \* достоверность –  $p < 0,05$ .

В результате анализа в группе в зрелом возрасте II-го периода по ВОЗ была выявлена отрицательная достоверная корреляционная связь между уровнем беклина-1 и ХС ЛПВП ( $r=-0,63$ ;  $p < 0,05$ ) и положительная между беклином-1 и триглицеридами ( $r=0,65$ ;  $p < 0,05$ ). В группе с ожирением была выявлена положительная достоверная корреляционная связь между концентрацией беклина-1 и уровнем триглицеридов (Таблица 3.3.3).

Таблица 3.3.4 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от массы тела у мужчин до КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа	0,76	-0,17	0,31	-0,36
Пациенты с ожирением	-0,18	-0,21	0,16	0,57*

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

Также выявлялась достоверная положительная связь (Таблица 3.3.5) в группе лиц пожилого возраста между концентрацией беклина-1 и уровнем внутриклеточной воды ( $r=0,84$ ;  $p < 0,05$ ). В группе с нормальным весом выявлена высоко достоверная связь между уровнем беклина-1 и внеклеточной водой. У пациентов с ожирением такая связь установлена между мышечной массой, тощей массой и содержанием общей воды (Таблица 3.3.6).

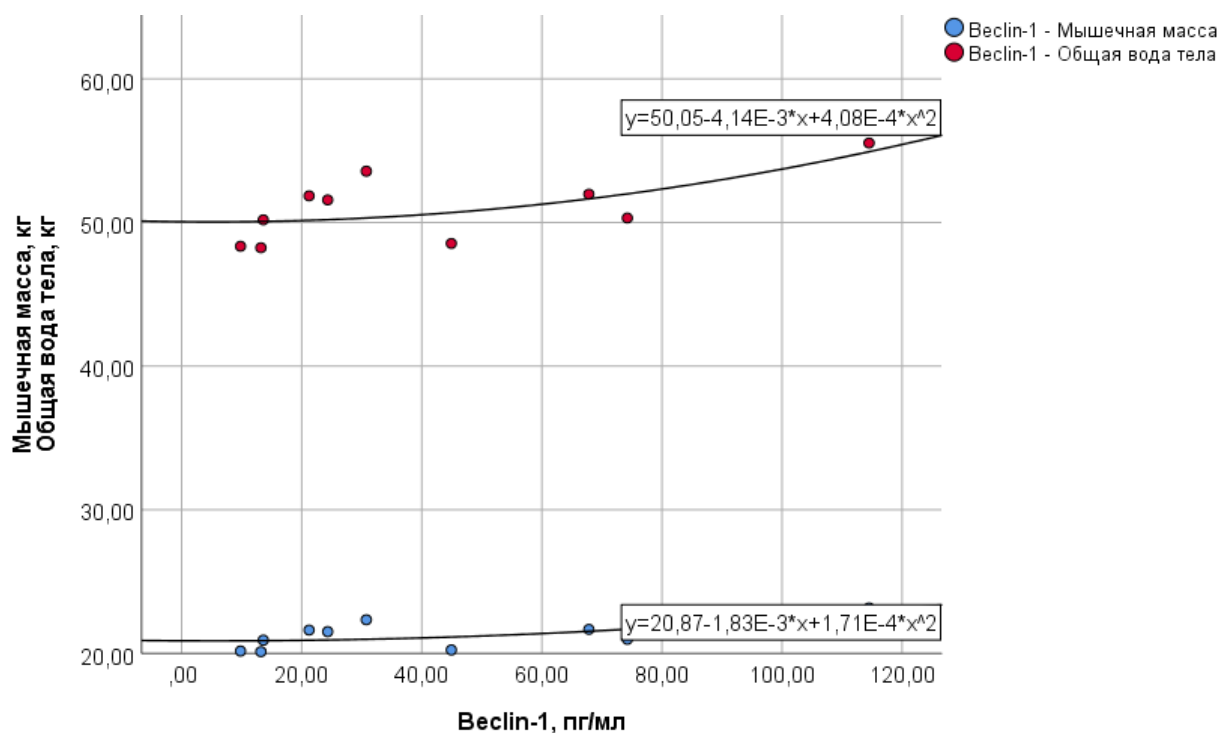


Рисунок 3.3.2 - График корреляционной зависимости между мышечной массой, общей водой тела и концентрацией беклина-1 в группе с ожирением у мужчин до КОП

Таблица 3.3.5 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста до КОП

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции								
	Возраст	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа	-0,23	0,02	-0,03	0,21	0,21	-0,1	0,21	0,11	0,2
Зрелый период) (I	0,24	0,0	-0,12	0,39	0,39	-0,02	0,39	0,49	0,27
Зрелый период) (II	0,01	0,19	0,2	-0,02	-0,02	0,35	-0,02	0,2	-0,2
Пожилой	-0,02	0,32	0,24	0,76	0,76	-0,02	0,76	0,22	0,84*

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода. \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Таблица 3.3.6 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела до КОП

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции								
	Возраст	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа	-0,41	0,38	-0,16	0,52	0,52	0,14	0,52	0,96**	0,03
Пациенты с ожирением	-0,04	0,04	0,03	0,62*	0,62*	-0,07	0,62*	0,06	0,47

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода. \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Была выявлена тесная корреляционная связь между количеством базофилов ( $r=1,0$ ;  $p < 0,01$ ) и эозинофилами ( $r=0,99$ ;  $p < 0,01$ ) у мужчин зрелого (молодого) возраста I-го периода до КОП (Таблица 3.3.7).

Проведенный анализ по весовым критериям показал, что при нормальном весе (контрольная группа) (Таблица 3.3.8) выявляются положительные достоверные связи между беклином-1 и количеством эозинофилов ( $r=0,97$ ;  $p < 0,05$ ) и базофилов ( $r=1,0$ ;  $p < 0,01$ ); у пациентов с ожирением между беклином-1 и лейкоцитами ( $r=0,52$ ;  $p < 0,05$ ; Таблица 3.3.9).

Таблица 3.3.7 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями общего анализа крови в зависимости от возраста у мужчин до КОП

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

Примечание: Эр. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Эоз. – эозинофилы; Нейт. – нейтрофилы сегментоядерные; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; И.И. – индекс интоксикации; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Таблица 3.3.8 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями общего анализа крови в зависимости от массы тела у мужчин до КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции									
	Эр.	Гем.	Лейк.	Баз.	Эоз.	Нейт.	Лимф.	Мон.	СОЭ	ИИ
Контрольная группа	0,62	0,42	-0,06	0,97	0,97*	-0,35	-0,04	0,68	-0,11	0,76
Пациенты с ожирением	-0,21	-0,09	0,52*	-0,54	-0,39	-0,13	0,16	0,07	0,24	-0,18

Примечание: Эр. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Эоз. – эозинофилы; Нейт. – нейтрофилы сегментоядерные; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; И.И. – индекс интоксикации; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Таблица 3.3.9 - Сводная таблица корреляционных связей между концентрацией беклина-1 и различными показателями у мужчин до КОП

Категории	Коэффициент корреляции											
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	ОХ	ТГ
Вся группа (n=17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Средний	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,63*	-	0,65*
Пожилой	-	-	-	-	-	-	-	0,84*	-	-	-	
Контрольная группа	-	-	-	-	-	-	0,96*	-	-	-	-	
Пациенты с ожирением	-	-	0,62*	0,62*	-0,07	0,62*	-	-	-	-	-	0,57*

Для большей наглядности корреляционные связи между уровнем беклина-1 и исследуемыми параметрами у мужчин до КОП представлены в виде рисунков и таблицы (Таблица 3.3.9; Рисунок 3.3.3).

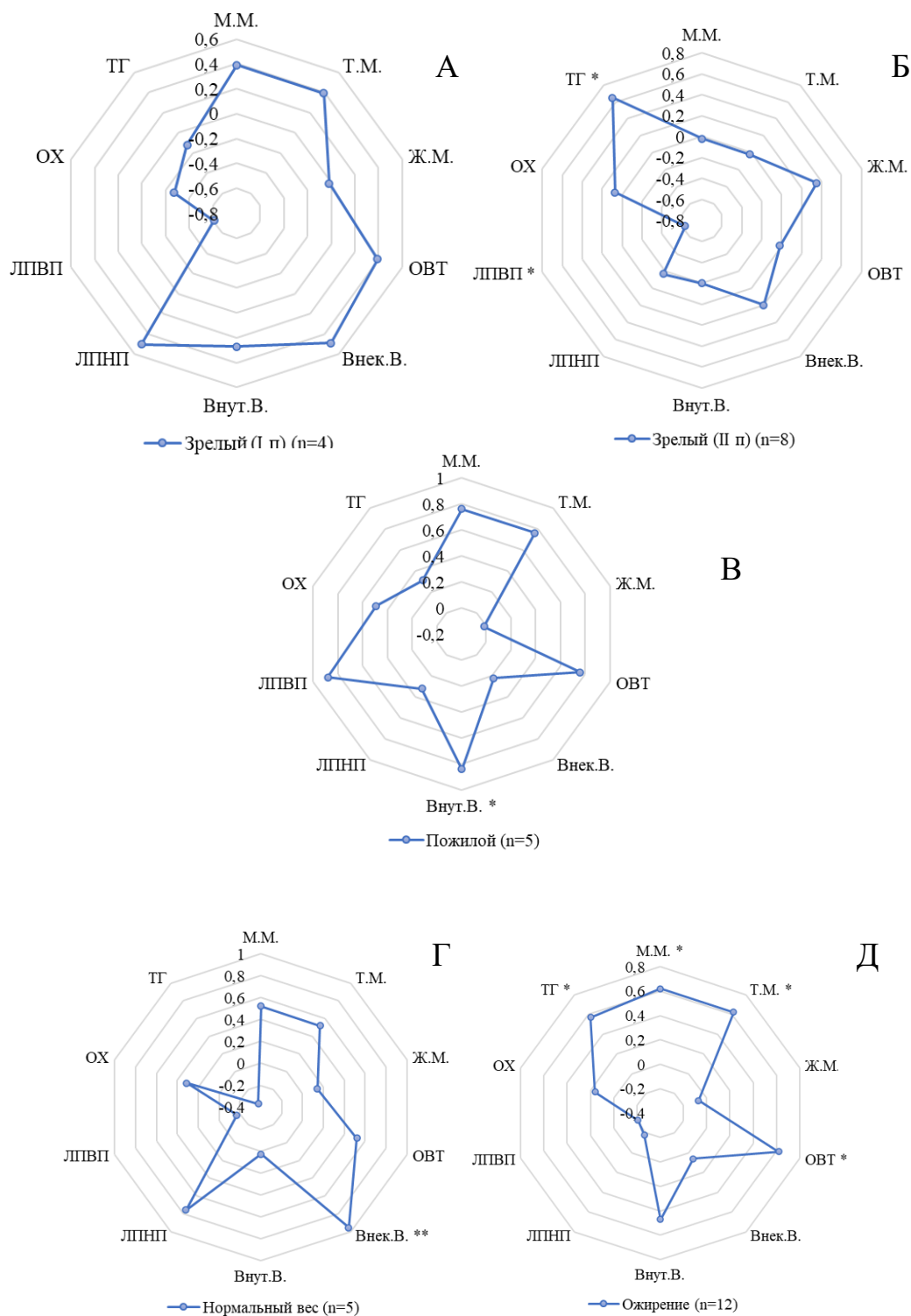


Рисунок 3.3.3 - Коэффициент корреляции между уровнем беклина-1 и компонентами состава тела до курса КОП у мужчин в группах с разным возрастом и индексом массы тела

Таким образом, несмотря на отсутствие достоверных различий средних величин концентрации беклина-1 в различных группах по возрасту и массе, в

каждой отдельной возрастной группе были выявлены различные корреляционные связи между исследуемыми параметрами. Это свидетельствует о том, что эти два фактора могут оказывать влияние на активность процесса аутофагии. Так, для зрелого возраста I-го периода и пожилого возраста активность беклина-1 находится в прямой связи с содержанием воды (внеклеточной и общей, соответственно). Кроме того, для пациентов с ожирением активность беклина-1 находится в связи с количеством мышечной и тощей массы. Возможно, это объясняется тем, что активность митофагии наблюдается преимущественно в мышцах.

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

#### **3.4. Исследование беклина-1 у мужчин после проведения комплексной оздоровительной программы**

При сравнении групп (Таблица 3.4.1) до- и после КОП выявились достоверные различия, характеризующиеся повышением уровня беклина-1 после КОП в 2 раза. Однако, детальный анализ статистического ряда показал, что у 6 из 19 человек уровень беклина-1 снижался (31,4%), а у 13 повышался (68,6%). Следовательно, реакция аутофагии у мужчин после КОП может проявляться в 2-х вариантах: с повышением и понижением уровня беклина-1.

Таблица 3.4.1 - Сравнение концентрации беклина-1 до- и после КОП у мужчин

Исследуемые группы	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
До КОП (n=17)	48,8	38,2	9,2	35,5	9,8	141,7	P <sub>1-2</sub> = 0,01(М.У); 0,03(Стюд.)
После КОП (n=18)	101,9	89,8	21,2	70,6	33,68	377,3	

Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и исследуемыми параметрами после КОП позволил выявить ряд интересных взаимосвязей. В связи с малочисленностью групп мы объединили зрелый II период и пожилой возраст в одну группу и провели соответствующий анализ.

Таблица 3.4.2 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста после КОП у мужчин

Возрастные группы/возраст	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=18)	-0,25	0,21	-0,1	0,17
Зрелый (I п.)	-0,59	0,52	0,17	0,18
Зрелый (II п.) + пожилой	0,13	0,13	0,49	0,13

Из Таблица 3.4.2 видно, что достоверные корреляционные связи между беклином-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста у мужчин не выявлялись. Однако, при исследовании групп в зависимости от веса, были выявлены достоверные положительные связи между ХС ЛПВП и беклином-1 ( $p < 0,01$ ) и отрицательные между ХС ЛПНП, ОХ и беклином-1 ( $p < 0,01$ ). Указанную реакцию можно считать благоприятной, так как в результате ее активации снижаются атерогенные компоненты липидного спектра.



Таблица 3.4.3 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста после КОП у мужчин

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=18)	0,46*	0,48*	0,2	0,2	0,62**	0,37	0,2	0,05
Зрелый (I п.)	0,68	0,69	-0,35	-0,35	-0,74	-0,35	0,11	-0,32
Зрелый (II п.) + пожилой	0,73**	0,76**	0,35	0,35	0,76**	0,46	0,27	0,13

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

При исследовании показателей состава тела (Таблица 3.4.3., 3.4.4.), были обнаружены положительные достоверные связи между весом, ИМТ и беклином-1; эти взаимосвязи прослеживались во всех группах кроме лиц зрелого возраста I-го периода. При исследовании групп в зависимости от веса определилась положительная корреляционная связь только между жировой массой и беклином-1.

Таблица 3.4.4 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела после КОП у мужчин

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа	0,02	-0,09	-0,03	-0,03	0,13	0,5	-0,16	0,12
Пациенты с ожирением	0,43	0,45	0,38	0,38	0,82*	0,38	0,36	-0,07

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода. \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Таблица 3.4.5 - Сводные данных корреляционных связей между концентрацией беклина-1 и различными показателями у мужчин после КОП

Категории	Коэффициент корреляции											
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	ОХ	ТГ
1.Вся группа (n=18)	0,46*	0,48*	-	-	0,62**	-	-	-	-	-	-	-
2.Зрелый (I п.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.Зрелый (II п.) + пожилой	0,73**	0,76**	-	-	0,76**	-	-	-	-	-	-	-
Контрольная группа	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пациенты с ожирением	-	-	-	-	0,82*	-	-	-	-	-	-	-

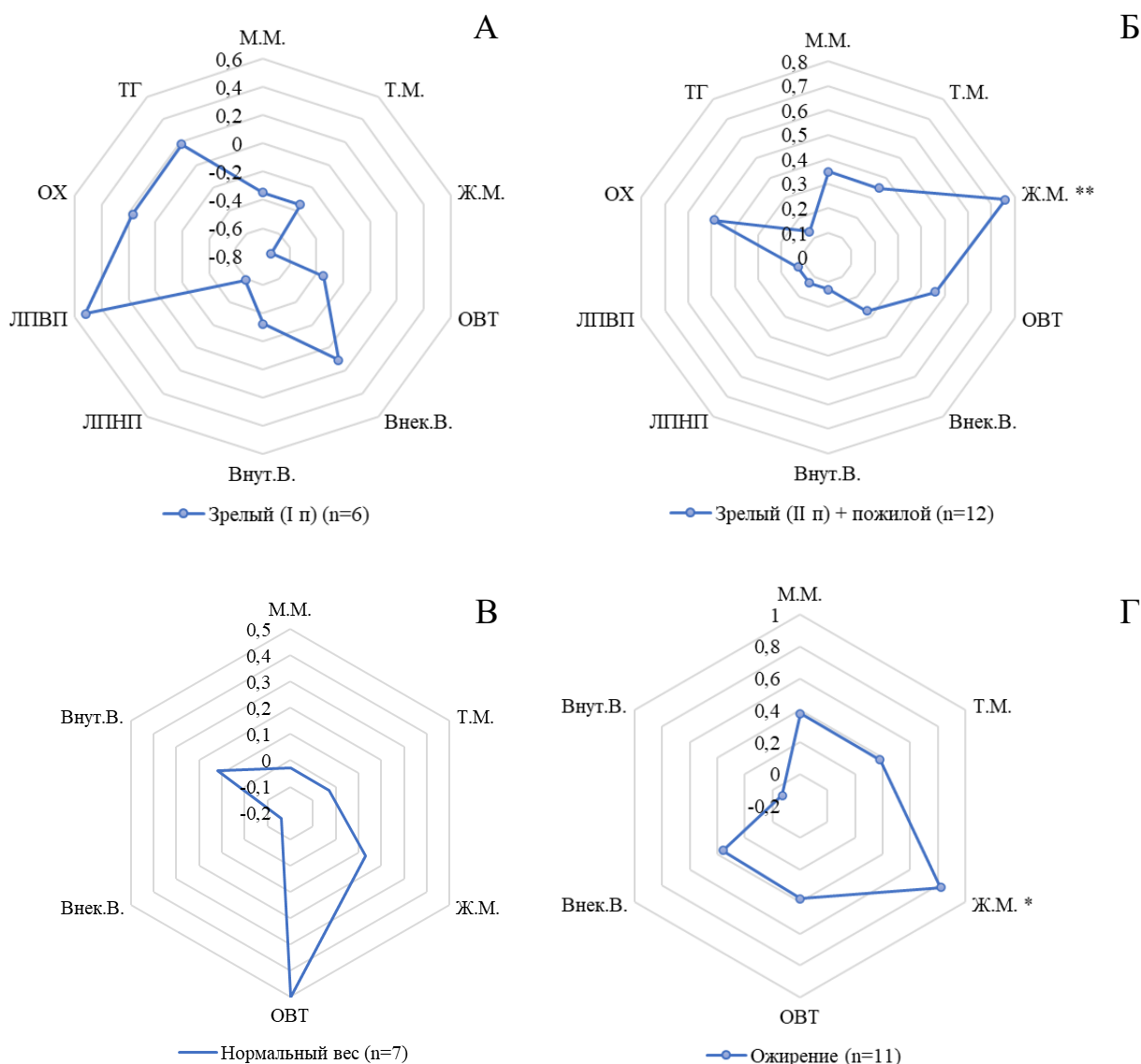


Рисунок 3.4.1 - Коэффициент корреляции между уровнем беклина-1 и компонентами состава тела после курса КОП у мужчин в группах с разным возрастом и индексом массы тела

Таким образом, ограничение калорийности питания у лиц мужского пола сопровождается преимущественно увеличением концентрации беклина-1. При этом теряются ряды корреляционных связей, выявленных до назначения КОП. В первую очередь это касается показателей липидного спектра. Наиболее отчетливая прямая связь выявляется между активностью аутофагии и содержанием жировой массы как у лиц с ожирением, так и у лиц зрелого возраста II-го периода (среднего) и пожилого возраста, где фактор ожирения также присутствовал.

### 3.5 Исследование беклина-1 у женщин до проведения комплексной оздоровительной программы

Показатели беклина-1 отличались у женщин, как и у мужчин высокой вариабельностью, не вписывающиеся в нормальное распределение. Разброс показателей в разных возрастных группах составил от 4,7 пг/мл до 216,6 пг/мл в межперцентильном интервале 5%-95% (Таблица 3.5.1). При этом среднее значение в общей группе составило 59,2 пг/мл; медиана 44,3 пг/мл. Сравнительный непараметрический анализ показателей концентрации беклина-1 между исследуемыми возрастными группами (Таблица 3.5.1) не выявил статистических различий.

Таблица 3.5.1 - Сравнительный анализ показателей беклина-1 в зависимости от возраста до КОП у женщин до КОП

Исследуемые группы/возраст	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.) (n=10)	51,9	39,8	12,58	43,71	4,71	107,43	P <sub>1-2</sub> =0,53 P <sub>1-3</sub> =0,85 P <sub>2-3</sub> =0,69
Зрелый (II п.) (n=28)	63,32	51,66	9,76	45,79	12,9	216,62	
Пожилой (n=12)	55,94	56,84	16,4	37,55	6,47	176,49	

Аналогичный анализ был проведен у женщин с различной массой (Таблица 3.5.2.).

Таблица 3.5.2 - Сравнительный анализ исходного уровня беклина-1 в зависимости от массы тела женщин до КОП

Исследуемые группы	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа (n=19)	53,58	53,44	12,26	36,26	4,71	216,62	P <sub>1-2</sub> =0,53
Пациенты с ожирением (n=31)	62,75	48,5	8,71	51,59	6,47	215,44	

Предпринятый анализ также не выявил достоверных различий между сравниваемыми группами, что послужило мотивом провести корреляционный анализ (Таблица 3.5.3.) между исследуемыми параметрами.

Таблица 3.5.3 - Корреляционный анализ между показателями состава тела и беклином-1 в различных возрастных группах женщин до КОП

Исследуемые группы/ возраст	Коэффициент корреляции								
	Возраст т	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=50)	0,06	-0,09	-0,07	0,06	0,06	-0,08	0,06	-0,03	0,11
Зрелый (I п.) (n=10)	0,12	0,63*	0,63*	0,06	0,06	0,54	0,06	-0,12	0,1
Зрелый (II п.) (n=28)	-0,05	-0,25	-0,22	0,11	0,11	-0,24	0,11	-0,05	0,2
Пожилой (n=12)	0,57*	-0,05	-0,05	-0,05	-0,05	0,03	-0,05	-0,00	-0,07

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода. \*- достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,05$ .

Данный анализ показал, что существует средняя положительная корреляционная связь в группе зрелого возраста I-го периода между весом (Рисунок 3.5.1.), ИМТ и беклином-1 ( $r=0,63$ ;  $p < 0,05$ ), а в группе пожилого возраста между возрастом и беклином-1 ( $r=0,57$ ;  $p < 0,05$ ) (Таблица 3.5.3.). Эти данные представляют особый интерес, так как свидетельствуют о том, что у исследуемых женщин в пожилом возрасте (60 и более лет) активность процесса аутофагии

находится в прямой зависимости от возраста после достижения возрастного рубежа в 60 лет.

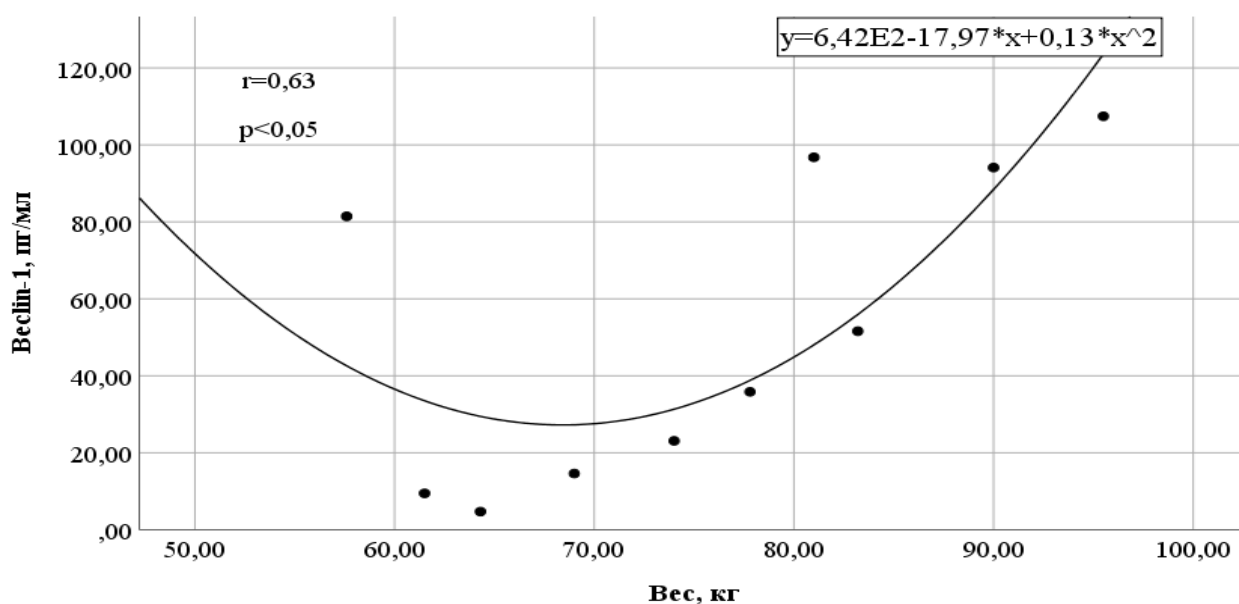


Рисунок 3.5.1. - График корреляционной зависимости между весом и концентрацией беклина-1 в зрелом возрасте I-го периода у женщин до КОП

Представляло интерес исследовать возможные корреляционные взаимосвязи уровня беклина-1 с показателями клинического анализа крови (Таблица 3.5.4.).

Таблица 3.5.4 - Корреляционная зависимость между уровнем беклина-1 и показателями клинического анализа крови у женщин до КОП

Исследуемые группы/ возраст	Коэффициент корреляции									
	Эр.	Гем.	Лейк.	Баз.	Эоз.	Нейт.	Лимф	Мон.	СОЭ	ИИ
Вся группа (n=50)	-0,23	-0,25*	-0,09	0,04	0,53**	-0,09	0,03	-0,14	-0,02	0,11
Зрелый (I п.) (n=10)	-0,35	-0,27	0,09	-0,52	0,36	0,52	-0,35	-0,52	-0,24	0,33
Зрелый (II п.) (n=28)	-0,23	-0,34*	-0,15	0,34	0,71**	-0,21	-0,00	0,22	-0,00	0,27
Пожилой (n=12)	-0,23	0,08	-0,11	-0,36	0,04	-0,08	-0,25	-0,59*	-0,07	-0,41

Примечание: Эр. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Эоз. – эозинофилы; Нейт. – нейтрофилы; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ИИ – индекс интоксикации.

\*- достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,05$ ; \*\*- достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,01$ .

При анализе данных были выявлены достоверные отрицательные корреляционные связи между уровнем показателей гемоглобина и беклина-1 во всей группе ( $r=-0,25$ ;  $p < 0,05$ ) и в группе зрелого возраста II-го периода ( $r=-0,34$ ;  $p < 0,05$ ). Такие же отрицательные корреляционные связи были выявлены между концентрацией моноцитов и беклином-1 в пожилом возрасте ( $r=-0,59$ ;  $p < 0,05$ ). Высоко достоверные положительные корреляционные связи выявлялись между уровнем эозинофилов и беклином-1 в общей группе ( $r=0,53$ ;  $p < 0,01$ ) и у обследованных женщин зрелого возраста II-го периода ( $r=0,71$ ;  $p < 0,01$ ) (Таблица 3.5.4.). Показатель «индекс интоксикаций» оказался вне зависимости от концентрации беклина-1.

Более значимые корреляционные связи между уровнем беклина-1 и показателями клинического анализа крови были выявлены в группах различной массы (Таблица 3.5.5.).

Таблица 3.5.5 - Корреляционные связи между показателями крови и уровнем беклина-1 у женщин с различной массой до КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции									
	Эр.	Гем.	Лейк.	Баз.	Эоз.	Нейт.	Лимф.	Мон.	СОЭ	ИИ
Контрольная группа (n=19)	-0,68**	-0,55**	0,03	0,00	0,48*	0,26	-0,28	-0,24	0,18	0,25
Пациенты с ожирением (n=31)	0,01	-0,03	-0,18	0,07	0,58**	-0,3	0,2	-0,05	-0,11	0,03

Примечание: Эр. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Эоз. – эозинофилы; Нейт. – нейтрофилы; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ИИ – индекс интоксикации.

\*- достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,05$ ; \*\*- достоверность коэффициента корреляции  $p < 0,01$ .

У лиц с нормальным весом наблюдалась средняя отрицательная корреляционная связь между количеством эритроцитов ( $r=-0,68$ ;  $p < 0,01$ ), концентрацией гемоглобина ( $r=-0,55$ ;  $p < 0,01$ ) и беклином-1 и положительная достоверная связь между количеством эозинофилов ( $r=0,48$ ;  $p < 0,05$ ) и беклином-1. В группе лиц с ожирением выявилась высоко достоверная положительная

корреляционная связь между количеством эозинофилов ( $r=0,58$ ;  $p < 0,01$ ) и концентрацией беклина-1 (Таблица 3.5.5.).

Корреляционный анализ между уровнем беклина-1 и показателями липидного спектра выявил следующие корреляционные связи (Таблица 3.5.6.).

Таблица 3.5.6 - Корреляционный анализ между показателями липидного спектра и уровнем беклина-1 в различных возрастных группах до КОП у женщин

Возрастные группы/возраст	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=50)	0,11	-0,03	0,14	-0,1
Зрелый (I п.) (n=10)	0,33	-0,6*	-0,03	0,21
Зрелый (II п.) (n=28)	0,27	0,15	0,27	-0,15
Пожилой (n=12)	-0,41	0,00	-0,32	-0,14

Примечание: ХС ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности.

Отрицательная корреляционная связь средней силы (Рисунок 3.5.2) была выявлена только в зрелом возрасте I-го периода между ХС ЛПВП ( $r=-0,6$ ;  $p < 0,05$ ) и беклином-1 (Таблица 3.5.6).

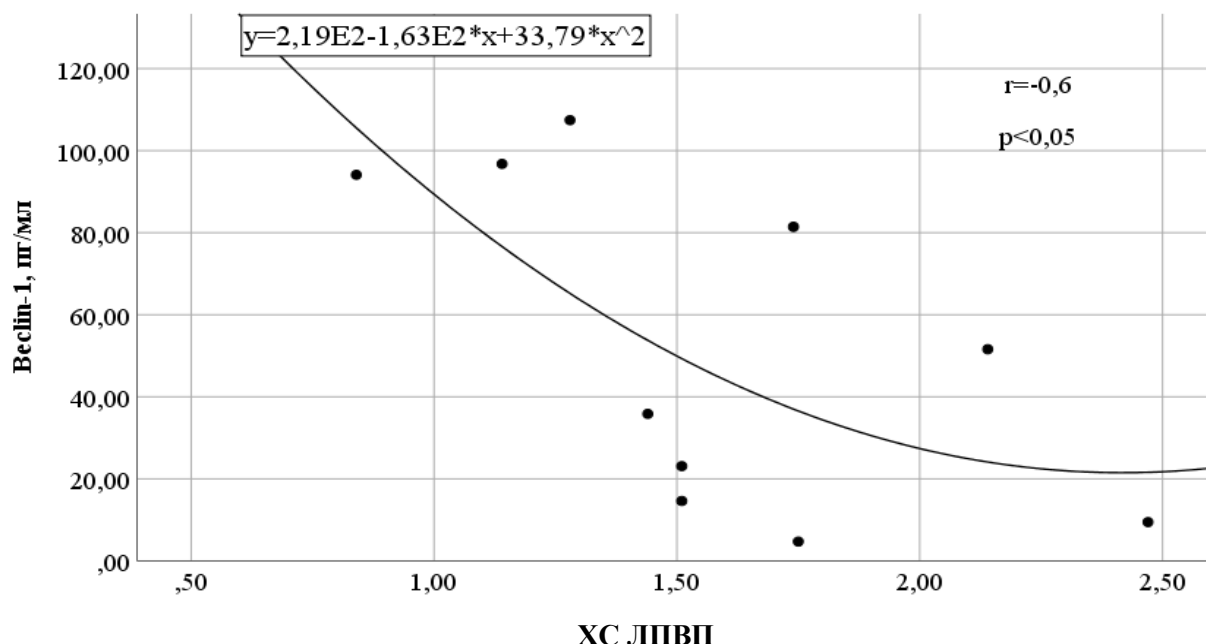


Рисунок 3.5.2 - График корреляционной зависимости между ХС ЛПВП и беклином-1 у женщин зрелого возраста I-го периода до КОП

Эта закономерность прослеживалась у женщин с концентрацией ХС ЛПВП в интервале 1,14 ммоль/л – 2,47 ммоль/л ( $M_{cp.} \pm m_0 = 1,58 \pm 0,14$  ммоль/л). Указанный интервал показателей ХС ЛПВП лежит в пределах физиологической нормы и оказался в большей степени связан именно с возрастом, но не с массой тела, о чем свидетельствуют данные Таблица 3.5.8.

Далее, был проведен корреляционный анализ показателей компонентов состава тела и концентрацией беклина-1 в зависимости от массы тела (Таблица 3.5.7.).

Таблица 3.5.7 - Корреляционный анализ между показателями состава тела и уровнем беклина-1 у женщин различной массы у женщин до КОП

Группы	Коэффициент корреляции								
	Возраст	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа (n=19)	0,24	-0,01	0,07	0,1	0,1	0,24	0,1	0,08	0,04
Пациенты с ожирением (n=31)	-0,15	-0,26	-0,24	0,07	0,07	-0,2	0,07	-0,07	-0,15

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

Как видно из Таблица 3.5.7, корреляционная связь ни по одному из исследуемых параметров выявлена не была.

Таблица 3.5.8 - Корреляционный анализ между показателями липидного спектра и беклина-1 у женщин разной массы до КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа (n=19)	0,25	0,05	0,33	-0,1
Пациенты с ожирением (n=31)	0,03	-0,07	0,05	-0,2

Примечание: ХС ЛПНП – холестерин липопротеиды низкой плотности; ХС ЛПВП – холестерин липопротеиды высокой плотности.



Как видно из Таблица 3.5.8., корреляционной связи между уровнем беклина-1 и показателями липидного спектра у лиц различной массы также выявлено не было.

Таблица 3.5.9 – Сводная таблица корреляционных данных между концентрацией беклина-1 и различными показателями у женщин до КОП

Категории	Коэффициент корреляции												
	Возраст	Вес	ИМТ	М.М	Т.М.	Ж.М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	ОХ	ТГ
Вся группа (n=50)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Зрелый (I п.) (n=10)	-	0,63*	0,63*	-	-	-	-	-	-	-	-0,6*	-	-
Зрелый (II п.) (n=28)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пожилкой (n=12)	0,57*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Контрольная группа (n=19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пациенты с ожирением (n=31)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

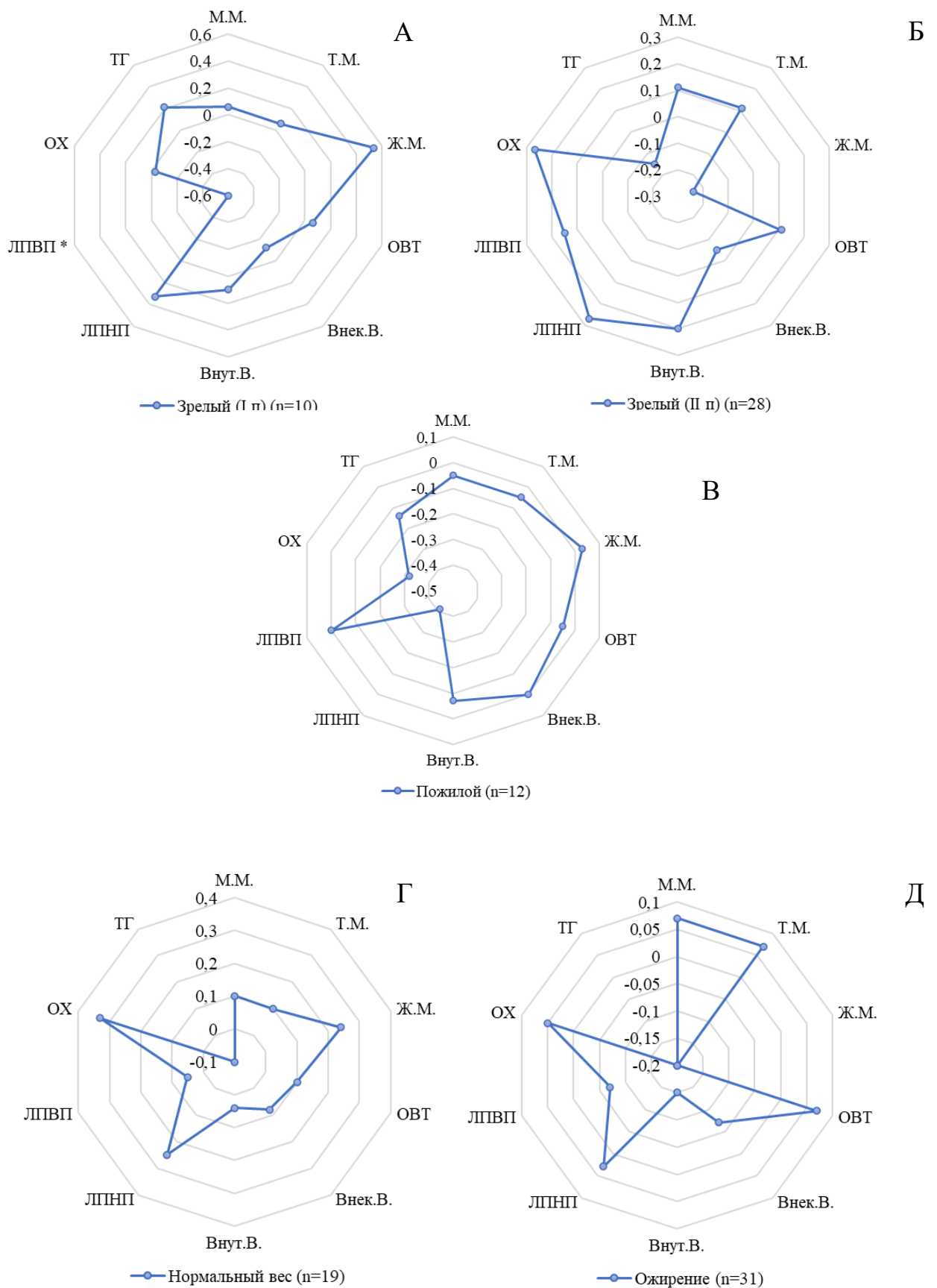


Рисунок 3.5.3 - Коэффициент корреляции между уровнем беклина-1 и компонентами состава тела до курса КОП у женщин в группах с разным возрастом и индексом массы тела.

Таким образом, как показал анализ полученных данных в физиологических условиях у женщин концентрация беклина-1 имела существенный разброс в межперцентильном интервале 5%-95% и варьировала от минимальных значений в 4,7 пг/мл до 216,6 пг/мл. Наличие подобного разброса может свидетельствовать о том, что на активность данного фермента могут оказывать влияние многочисленные факторы. Попытка установить закономерности активности Beclin-1 с помощью сравнения среднестатистических значений не дала результатов, однако корреляционный анализ показал наличие множественных достоверных связей, представляющих интерес для дальнейшего изучения. Логическим этапом исследования было сопоставление уровня маркера с массой тела, но у лиц разной возрастной категорией. Были получены интересные результаты, подтверждающие наличие умеренной прямой достоверной корреляционной связи у лиц молодого возраста между весом, индексом массы тела и беклином-1 ( $r=0,63$ ;  $p < 0,05$ ), а в группе пожилых пациентов - между возрастом и беклином-1 ( $r=0,57$ ;  $p < 0,05$ ). В первом случае увеличение активности беклина-1 по мере увеличения массы тела можно объяснить, вероятно, несколькими факторами: наращиванием мышечной массы, в которой наиболее активно происходит процесс аутофагии, увеличением жировой массы в этот возрастной период и повышением ее провоспалительного потенциала, совершенством в этом возрасте механизмов аутофагии. Отсутствие корреляционных связей у лиц зрелого возраста II-го периода, по всей вероятности, как раз свидетельствует о рассогласованности уже на этом этапе механизмов аутофагии. Однако, повышение активности беклина-1 ( $r=0,57$ ;  $p < 0,05$ ) в группе пожилых лиц требует отдельного изучения и объяснения. Этот факт входит в некоторое противоречие с данными экспериментов на крысах, свидетельствующих об обратной зависимости.

Многие исследователи отмечают усиление в этом возрасте образование различных радикалов, которые являются триггером процесса аутофагии. Эта активация в наших наблюдениях больше была связана с возрастом и в меньшей степени с массой. Возможно, это явление связано с другими механизмами, а именно с активацией процесса саркопении в пожилом возрасте. Если принять тот

факт, что явление аутофагии и апоптоза происходят в богатых митохондриями органах и тканях, к которым относится мышечная, то такое предположение выглядит вполне логично. В то же время оказались положительно связаны количество эозинофилов с уровнем беклина-1 у лиц с нормальной массой и ожирением особенно в зрелом возрасте II-го периода и отрицательно с уровнем гемоглобина ( $r=-0,55$ ;  $p < 0,01$ ) и количеством эритроцитов ( $r=-0,68$ ;  $p < 0,01$ ) у лиц с нормальным весом. У лиц зрелого возраста II-го периода, независимо от веса, выявлялась отрицательная ( $r=-0,34$ ;  $p < 0,05$ ) корреляционная связь между уровнем гемоглобина и уровнем беклина-1.

Возможно, что железо гемоглобина использовалось в реакции оксидативного стресса на этапах его высокой активности. С другой стороны, снижение уровня гемоглобина на фоне повышения беклина-1 могло быть следствием протекания в доклимактерическом периоде у женщин физиологического овуляторного цикла с активацией апоптоза и аутофагии.

Одной из особенностей соотношения между беклином-1 и ХС ЛПВП в молодом возрасте (зрелый возраст I-го периода) является обратная корреляционная зависимость между ХС ЛПВП и уровнем беклина-1 ( $r=-0,6$ ;  $p < 0,05$ ). Средние концентрации беклина-1 ( $51,9 \pm 12,5$  пг/мл) находились в обратной зависимости в этом диапазоне ( $4,7-107,4$  пг/мл) с оптимальным уровнем ХС ЛПВП ( $1,58 \pm 0,14$  ммоль/л). Эта зависимость не прослеживается, если взять за основу массу тела. С определенной долей вероятности можно допустить то, что доминирующим фактором, определяющим соотношение уровня беклина-1 и ХС ЛПВП является возраст.

Следовательно, активность фермента Beclin-1 у женщин характеризуется высокой вариабельностью, зависящей от соотношения комплекса факторов: возраста, массы тела, клинических и биохимических параметров крови. Особенностью активности Beclin-1 в различных возрастных группах у женщин является наличие положительных корреляционных связей между уровнем беклина-1 и массой тела, ИМТ у лиц зрелого возраста I-го периода (молодом по ВОЗ) и между уровнем беклина-1 и возрастом в группе пожилых. Было отмечено, что

особенностью соотношения уровня беклина-1 и исследуемых параметров является наличие в зрелом возрасте II-го периода положительной корреляционной связи беклина-1 с количеством эозинофилов и отрицательной с концентрацией гемоглобина; в пожилом возрасте наличие отрицательной корреляционной связи с количеством моноцитов; отрицательной связи с количеством эритроцитов и гемоглобина у лиц с нормальным весом и положительной с количеством эозинофилов в группах с нормальным весом и ожирением. Что касается липидного спектра, то у женщин зрелого возраста I-го периода выявлена отрицательная корреляционная связь между концентрацией беклина-1 и ХС ЛПВП, при этом уровень ХС ЛПВП оставался в пределах физиологических колебаний.

### **3.6. Исследование беклина-1 у женщин после проведения комплексной оздоровительной программы**

Анализ исследуемых параметров был проведен с помощью сравнения средних показателей концентрации беклина-1 и корреляционного анализа данных. В исследовании принимали участие женщины в возрасте от 24 до 66 лет (n=50). Следует отметить, что реакция аутофагии на КОП оказалась разнонаправленной: у 19 женщин из 50 имело место снижение уровня беклина-1 (38%), 31 повышение (62%). В связи с этим применен непараметрический метод статистической обработки.

Интересным фактом являлось то, что средние значения концентрации беклина-1 до- и после КОП во всей исследуемой группе без учета возраста и веса достоверно не отличались ( $81,8 \pm 7,16$  и  $76,3 \pm 7,8$ ;  $p < 0,7$ ). Однако, сравнения в зависимости от возраста показали некоторые отличия (Таблица 3.6.1.).

При анализе полученных данных (Таблица 3.6.1.), выявлены достоверные различия концентрации беклина-1 между группами зрелого возраста I-го периода и пожилых. Подобных различий между показателями у лиц с нормальным весом и ожирением (Таблица 3.6.2.) не обнаружилось.

Таблица 3.6.1 – Сравнение концентрации беклина-1 между возрастными группами у женщин после КОП

Исследуемые группы/возраст	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.) (n=11)	93,2	55,1	16,6	93,2	26,9	217,7	P <sub>1-2</sub> =0,2(ст) P <sub>1-3</sub> =0,02(ст) P <sub>1-3</sub> =0,03(МУ) P <sub>2-3</sub> =0,1(ст)
Зрелый (II п.) (n=28)	71,7	46,7	8,8	54,4	23,1	184,7	
Пожилой (n=11)	48,6	25,2	7,6	35,1	19,7	94,9	

Примечание: МУ – критерий Манна-Уитни; ст – критерий Стьюдента.

Таблица 3.6.2 – Сравнение концентрации беклина-1 между нормальным весом и ожирением у женщин после КОП

Исследуемые группы	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа (n=22)	69,3	48,1	10,2	53,8	26,9	217,7	P <sub>1-2</sub> =0,8
Пациенты с ожирением (n=28)	72,9	46,3	8,7	61,3	19,7	184,75	

Таблица 3.6.3 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста у женщин после КОП

Возрастные группы/возраст	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=50)	-0,11	0,34*	-0,18	-0,24
Зрелый (I п.) (n=11)	-0,47	0,58	0,02	-0,6
Зрелый (II п.) (n=28)	-0,02	0,53*	-0,29	-0,27
Пожилой (n=11)	0,43	-0,6	0,06	0,27

Положительная корреляционная связь наблюдалась между ХС ЛПВП и беклином-1 во всей группе и у обследованных зрелого возраста II-го периода (Таблица 3.6.3.). Данная тенденция также наблюдалась у группы с нормальным весом; результаты оказались высокодостоверными (Таблица 3.6.4.).

Таблица 3.6.4 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от веса у женщин после КОП

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа (n=22)	-0,16	0,61**	0,003	-0,28
Пациенты с ожирением (n=28)	-0,08	0,07	-0,28	-0,17

При изучении состава тела прямая корреляционная связь выявлялась в зрелом возрасте II-го периода между весом и беклином-1 (Таблица 3.6.5.), а также в группе с нормальным весом между жировой массой и беклином-1 (Таблица 3.6.6.).

Таблица 3.6.5 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста у женщин после КОП

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=50)	0,05	0,03	0,01	0,01	0,04	0,01	-0,03	0,03
Зрелый (I п.) (n=11)	0,18	0,34	0,19	0,2	0,5	0,21	0,37	-0,08
Зрелый (II п.) (n=28)	0,32*	0,3	-0,15	-0,15	0,29	-0,15	-0,23	-0,4
Пожилой (n=11)	-0,33	-0,34	0,34	0,34	-0,36	0,34	0,34	0,25

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

Таблица 3.6.6 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от веса у женщин после КОП

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа (n=22)	0,17	0,29	0,006	0,01	0,38*	0,02	0,13	-0,08
Пациенты с ожирением (n=28)	-0,008	-0,05	0,02	0,02	-0,02	0,02	-0,09	0,09

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

Таблица 3.6.7 – Сводная таблица корреляционных связей между концентрацией беклина-1 и различными показателями у женщин после КОП

Категории	Коэффициент корреляции											
	Вес	ИМТ	М. М	Т. М	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	ОХ	ТГ
Вся группа (n=50)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,34*	-	-
Зрелый (I п.) (n=11)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Зрелый (II п.) (n=28)	0,32*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,53*	-	-
Пожилой (n=11)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Контрольная группа (n=22)	-	-	-	-	0,38*	-	-	-	-	0,61**	-	-
Пациенты с ожирением (n=28)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



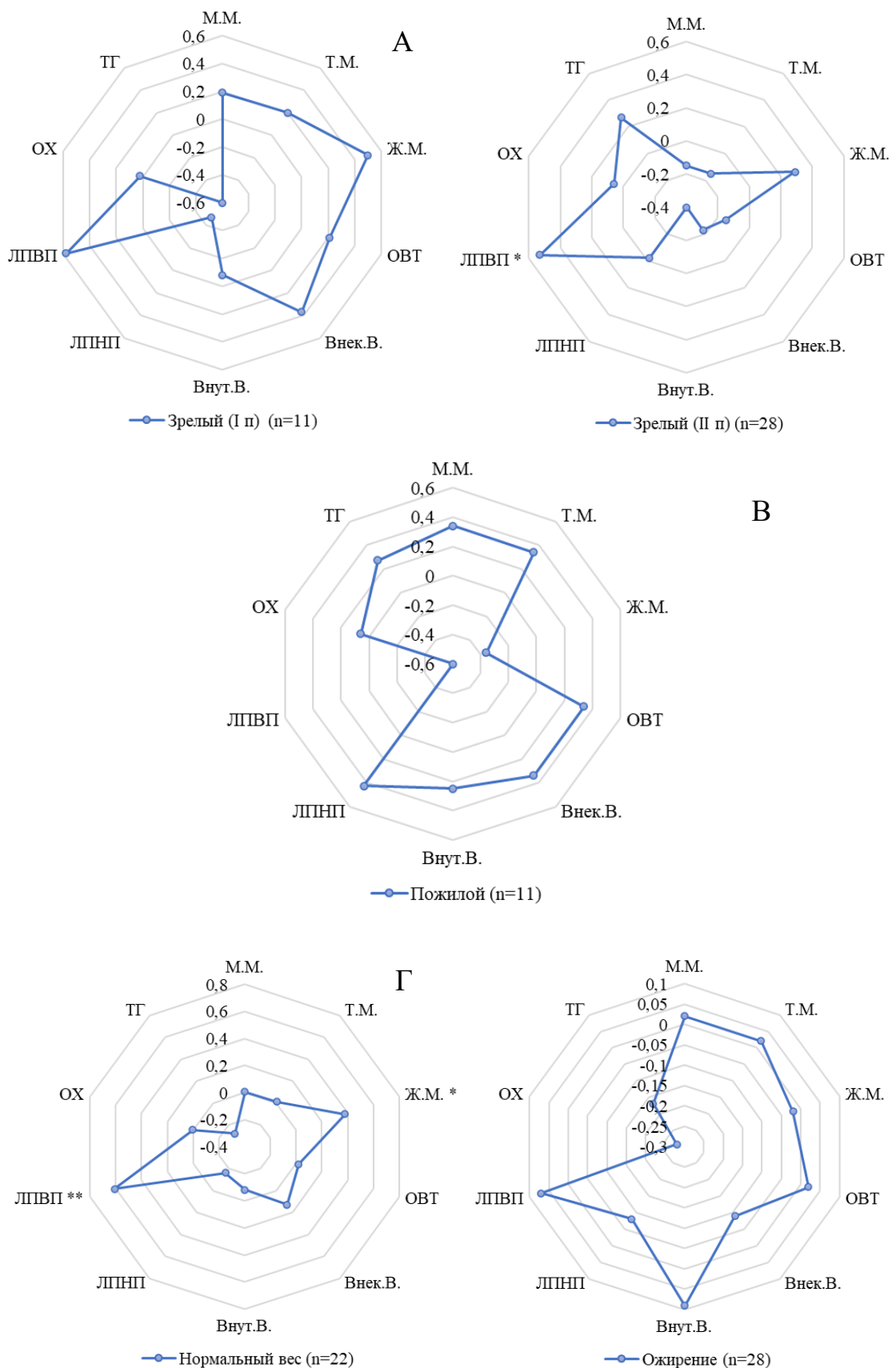


Рисунок 3.6.1 - Коэффициент корреляции между уровнем беклина-1 и компонентами состава тела после курса КОП у женщин в группах с разным возрастом и индексом массы тела

Таким образом, концентрация беклина-1 после КОП оказалась достоверно ниже в группе пожилых, чем у женщин зрелого возраста I-го периода. Концентрация ХС ЛПВП как во всей группе, так и у женщин зрелого возраста II-го периода, а также у лиц с нормальным весом находилась в прямой корреляционной зависимости от концентрации беклина-1. Эти связи следует признать как благоприятные и они свидетельствуют о сохранившихся компенсаторных механизмах у лиц среднего возраста и у лиц с нормальным весом.

### **3.7. Анализ степени активности аутофагии до- и после проведения комплексной оздоровительной программы у женщин по показателям «дельта- беклин-1»**

Учитывая значительное количество наблюдений среди женщин, был предпринят, в первую очередь, более детальный анализ полученных данных у этой группы обследованных. Для оценки степени активности аутофагии нами был использован показатель «дельта»-беклина-1 – разница показателей концентрации беклина-1 после проведения КОП и исходной концентрацией, выраженная в процентах к исходному. При этом в зависимости от вектора направленности изменений (в сторону повышения или в сторону понижения) этот показатель мог иметь знак «+» или «-». Основные данные представлены в таблице 3.7.1-3.7.7.

Исходя из представленных данных в таблице 3.7.1, можно видеть, что реакция на ограничение калорийности питания наиболее выраженной оказалась у женщин пожилого возраста.

Таблица 3.7.1 - Сравнение концентрации дельты беклина-1 (%) до- и после КОП у женщин в зависимости от возраста

Исследуемые группы/возраст	М ср. (%)	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.) (n=11)	57,5	109,3	32,9	31,0	-51,0	333,0	P <sub>1-2</sub> =0,95 P <sub>1-3</sub> =0,12 P <sub>2-3</sub> =0,02
Зрелый (II п.) (n=28)	60,0	108,3	20,4	35,0	-65,0	379,0	
Пожилый (n=12)	239,0	361,4	104,3	102,5	-63,0	989,0	

Таблица 3.7.2 - Сравнение дельты беклина-1 до- и после КОП в зависимости от веса у женщин

Исследуемые группы/возраст	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа (n=18)	124,5	236,3	55,7	32,5	-49	822	P <sub>1-2</sub> =0,6
Пациенты с ожирением (n=33)	194,0	194,0	33,7	41	-65	989	

Однако, у лиц с нормальным весом в сравнении с группой лиц, имеющих ожирение (Таблица 3.7.2.) такой разницы не выявлялось. Следовательно, можно сделать заключение о том, что исходный вес не определял активность процесса при ограничении калорийности питания.

При сравнении активности аутофагии у лиц разного возраста (Таблица 3.7.3.; 3.7.5.) выявлены прямая связь ( $r = 0,31$ ;  $p < 0,05$ ) между общим холестерином и дельтой беклина-1 во всей группе, а в группе зрелого возраста II-го периода – отрицательная корреляционная связь ( $r = -0,35$ ;  $p < 0,05$ ) между ХС ЛПВП и дельтой беклина-1 (Таблица 3.7.4.).

У женщин пожилого возраста (Таблица 3.7.4) картина оказалась следующей: чем выше активность процесса аутофагии, тем выше отмечалась концентрация ХС ЛПНП ( $r = 0,59$ ;  $p < 0,05$ ) и общего холестерина ( $r = 0,74$ ;  $p < 0,01$ ). Такая же закономерность наблюдалась у лиц с нормальным весом по отношению к общему холестерину ( $r = 0,53$ ;  $p < 0,05$ ) и триглицеридам ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,05$ ).

Анализируя потери компонентов тела (Таблица 3.7.5) следует отметить, что наиболее ярко такая зависимость наблюдалась в зрелом возрасте II-го периода (среднем по ВОЗ) между показателями мышечной, тощей массы, общей водой, а в пожилом возрасте – обратная зависимость между весом, индексом массы тела и дельтой беклина-1. Однако, если исключить из анализа фактор возраста, то исходный вес не определял активность аутофагии во всей группе.

Таблица 3.7.3 - Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста у женщин

Возрастные группы/возраст	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=51)	0,18	-0,17	0,31*	0,04
Зрелый (I п.) (n=11)	-0,19	-0,12	0,05	0,22
Зрелый (II п.) (n=28)	-0,03	-0,35*	0,23	-0,08
Пожилой (n=12)	0,59*	0,05	0,74**	0,19

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

Таблица 3.7.4 - Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от массы тела у женщин

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа (n=18)	0,35	-0,19	0,53*	0,54*
Пациенты с ожирением (n=33)	0,11	-0,15	0,28	-0,15

Примечание: \*достоверность –  $p < 0,05$

Таблица 3.7.5 - Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста у женщин

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=51)	-0,13	-0,14	0,04	0,07	-0,01	0,07	-0,11	0,17
Зрелый (I п.) (n=11)	-0,27	-0,32	0,27	0,27	0,4	0,26	-0,12	0,18
Зрелый (II п.) (n=28)	0,12	0,12	0,48**	0,49**	0,22	0,49**	-0,04	0,54**
Пожилой (n=12)	-0,65*	-0,61*	-0,27	-0,2	-0,04	-0,2	-0,04	-0,01

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \*достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\*достоверность –  $p < 0,01$

Таблица 3.7.6 - Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела у женщин

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа (n=18)	-0,3	-0,37	-0,31	-0,14	-0,14	-0,14	-0,18	0,14
Пациенты с ожирением (n=33)	0,01	0,02	0,19	0,19	0,14	0,19	-0,06	0,24

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \*достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\*достоверность –  $p < 0,01$

Последующий анализ был построен следующим образом: сравнивались показатели состава тела до- и после с показателями до- и после КОП уровня беклина-1 (т.е. по дельте). Причем, были выделены 2 основные группы: с положительной дельтой (+ $\Delta$ ) и отрицательной дельтой (- $\Delta$ ). Данные представлены в Таблица 3.7.7.

Таблица 3.7.7 - Сравнение морфометрических показателей у женщин между отрицательной и положительной дельтами в межперцентильном интервале 5%-95%

	Среднее	СО	СОС	P
n - $\Delta$ =19; n + $\Delta$ =32				
а) Возраст (- $\Delta$ ), годы	51,05	12,7	3,0	P=0,6
б) Возраст (+ $\Delta$ ), годы	52,7	9,7	1,7	
а) $\Delta$ ИМТ (- $\Delta$ ), %	-7,9	2,2	0,5	P=0,7
б) $\Delta$ ИМТ (+ $\Delta$ ), %	-7,7	2,4	0,4	
а) ИМТ до (- $\Delta$ ), кг/м <sup>2</sup>	32,6	4,0	0,9	P=0,4
б) ИМТ до (+ $\Delta$ ), кг/м <sup>2</sup>	34,7	10,8	2,0	
а) ИМТ после (- $\Delta$ ), кг/м <sup>2</sup>	30,1	3,8	0,9	P=0,4
б) ИМТ после (+ $\Delta$ ), кг/м <sup>2</sup>	32,1	10,3	1,8	
n - $\Delta$ =18; n + $\Delta$ =30				
а) $\Delta$ Мышечная масса (- $\Delta$ ), %	-1,3	1,4	0,3	P=0,3
б) $\Delta$ Мышечная масса (+ $\Delta$ ), %	0,4	7,6	1,4	
а) Мышечная масса до (- $\Delta$ ), кг	14,8	1,3	0,3	P=0,2
б) Мышечная масса до (+ $\Delta$ ), кг	14,0	2,9	0,5	
а) Мышечная масса после (- $\Delta$ ), кг	14,6	1,4	0,3	P=0,2
б) Мышечная масса после (+ $\Delta$ ), кг	13,9	2,6	0,5	
а) $\Delta$ Тощая масса (- $\Delta$ ), %	-1,3	1,4	0,3	P=0,3
б) $\Delta$ Тощая масса (+ $\Delta$ ), %	0,4	7,3	1,3	
а) Тощая масса до (- $\Delta$ ), кг	48,6	4,3	1,0	P=0,2
б) Тощая масса до (+ $\Delta$ ), кг	45,7	9,4	1,7	
а) Тощая масса после (- $\Delta$ ), кг	48,0	4,5	1,1	P=0,2
	45,4	8,4	1,5	

Продолжение Таблица 3.7.7

б) Тощая масса после (+Δ), кг				
а) Δ Жировая масса (- Δ), %	-11,4	4,4	1,0	P=0,5
б) Δ Жировая масса (+Δ), %	-10,9	8,0	1,5	
а) Жировая масса до (-Δ), кг	34,5	10,6	2,5	P=0,1
б) Жировая масса до (+Δ), кг	46,7	32,8	6,0	
а) Жировая масса после (-Δ), кг	30,7	10,1	2,4	P=0,1
б) Жировая масса после (+Δ), кг	42,4	31,5	5,7	
а) Δ Общая вода (-Δ), %	-1,3	1,4	0,3	P=0,3
б) Δ Общая вода (+Δ), %	0,4	7,3	1,3	
а) Общая вода до (-Δ), кг	35,5	3,1	0,7	P=0,2
б) Общая вода до (+Δ), кг	33,4	6,9	1,2	
а) Общая вода после(-Δ), кг	35,1	3,3	0,8	P=0,2
б) Общая вода после (+Δ), кг	33,3	6,1	1,1	
а) Δ Внеклеточная вода (-Δ), %	2,6	12,8	3,0	P=0,6
б) Δ Внеклеточная вода (+Δ), %	4,9	16,9	3,1	
а) Внеклеточная вода до (-Δ), кг	13,2	1,7	0,4	P=0,8
б) Внеклеточная вода до (+Δ), кг	13,4	3,0	0,5	
а) Внеклеточная вода после (-Δ), кг	13,5	1,9	0,4	P=0,7
б) Внеклеточная вода после (+Δ), кг	13,8	3,0	0,5	
а) Δ Внутриклеточная вода (-Δ), %	-3,2	7,3	1,7	P=0,6
б) Δ Внутриклеточная вода (+Δ), %	-1,8	11,6	2,1	
а) Внутриклеточная вода до (-Δ), кг	22,3	2,4	0,5	P=0,059
б) Внутриклеточная вода до (+Δ), кг	20,1	4,5	0,8	
а) Внутриклеточная вода после (-Δ), кг	21,6	2,8	0,6	P=0,06
б) Внутриклеточная вода после (+Δ), кг	19,4	4,2	0,8	
а) Beclin-1 до (-Δ), пг/мл	100,4	90,0	21,2	P=0,6
б) Beclin-1 до (+Δ), пг/мл	76,2	181,2	33,1	

а) Beclin-1 после (-Δ), пг/мл	68,7	67,9	16,0	P=0,3
б) Beclin-1 после (+Δ), пг/мл	135,9	164,1	48,2	

Примечание: Δ – дельта между показателями до КОП и после КОП; «а» - группа с отрицательной дельтой, «б» - группа с положительной дельтой.

Предпринятый анализ показал, что основные события разворачиваются в водных секторах. Так, потеря внутриклеточной жидкости оказалась больше у лиц с отрицательной дельтой, в то время как у лиц с повышением активности аутофагии внутриклеточный сектор оказался уменьшенным в значительно меньшей степени. Если сравнить исходные показатели, то объем внутриклеточного сектора у лиц с отрицательной динамикой аутофагии оказался несколько больше. Эта же тенденция сохранилась и после КОП, однако уровень достоверности оказался не достаточным ( $p < 0,06$ ).

Что касается показателей беклина-1 у лиц с последующей отрицательной дельтой, то уровень беклина-1 у этих лиц по средним показателям оказался несколько выше в исходном состоянии ( $M_{cp} = 100,4 \pm 21,2$  пг/мл), чем у лиц с положительной дельтой ( $M_{cp} = 76,2 \pm 33,1$  пг/мл). Последующая реакция на КОП характеризовалась снижением уровня беклина-1 ( $M_{cp} = 68,7 \pm 16,0$  пг/мл) у лиц с исходно высокими показателями беклина-1 и повышением ( $M_{cp} = 135,9 \pm 48,2$  пг/мл) у лиц с исходно низкими показателями.

Таким образом, если рассматривать возрастные особенности, то в пожилом возрасте у женщин отмечена более активная реакция аутофагии на КОП, чем в молодом и среднем возрасте (зрелом I и II-го периода). В зрелом возрасте II-го периода устанавливаются, по всей видимости, физиологические соотношения или прямые корреляционные связи между дельтами беклина-1 и содержанием тощей и мышечной массами. Можно предположить, что в этом возрасте активация аутофагии происходит преимущественно в мышечной массе. Кроме того, исходная активность и после КОП аутофагии оказалась выше у женщин, у которых внутриклеточный водный сектор был меньше, а потери жидкости в процессе КОП

были более значимыми. Возможно, что это явилось следствием повышенной биохимической активности клетки.

### 3.8. Анализ степени активности аутофагии до- и после проведения комплексной оздоровительной программы у мужчин по показателям "дельта- беклин-1»

В первую очередь были проведены сопоставления полученных данных в зависимости от возраста и веса пациентов (Таблица 3.8.1; 3.8.2).

Таблица 3.8.1 – Сравнение дельты концентрации беклина-1 (в % от исходного) до- и после КОП в зависимости от возраста у мужчин

Исследуемые группы/возраст	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.)	164,75	234,98	117,5	123,5	-40	452	P <sub>1-2</sub> =0,78 P <sub>1-3</sub> =0,81 P <sub>2-3</sub> =0,61
Зрелый (II п.)	222,13	358,99	126,92	66,5	-35	987	
Пожилой	129,2	191,13	85,47	66,0	-17	462	

Таблица 3.8.2 – Сравнение дельты концентрации беклина-1 (в % от исходного) до- и после КОП в зависимости от веса у мужчин

Исследуемые группы/возраст	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа	89,6	104,9	46,9	66	-14	261	P <sub>1-2</sub> =0,4
Пациенты с ожирением	219,5	321,7	92,9	66,5	-40	987	

При сравнении показателей дельты-беклина-1 между группами в зависимости от возраста (Таблица 3.8.1.) и веса (Таблица 3.8.2.) достоверных различий выявить не удалось. Однако, при анализе показателей липидного спектра и активности аутофагии были получены интересные данные (Таблица 3.8.3.).



Таблица 3.8.3 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста у мужчин

Возрастные группы/возраст	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=17)	0,18	0,02	0,21	0,19
Зрелый (I п.)	0,94*	-0,91*	0,59	-0,32
Зрелый (II п.)	0,44	-0,41	0,5	0,46
Пожилый(	-0,99*	0,94**	-0,98**	-0,33

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

При корреляционном анализе (Таблица 3.8.3.) была выявлена положительная корреляционная связь у лиц зрелого возраста I-го периода между ХС ЛПНП и дельтами беклина-1 и отрицательная между ХС ЛПВП и дельтой беклина-1. В пожилом возрасте высокая прямая корреляционная связь выявилась между ХС ЛПВП, ОХ и дельтой беклина-1 и отрицательная между ХС ЛПНП и дельтой беклина-1. Данная тенденция не наблюдалась в группе зрелого возраста II-го периода (среднего возраста). При анализе показателей активности аутофагии в зависимости от веса различия выявлены не были (Таблица 3.8.4.).

Таблица 3.8.4 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от массы тела у мужчин

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа	0,29	-0,6	0,55	0,3
Пациенты с ожирением	0,2	0,006	0,25	0,32

При анализе показателей дельты состава тела (Таблица 3.8.5.) обнаружили прямые корреляционные связи в зрелом возрасте I-го периода между показателями мышечной массой, тощей массы, общей воды тела и дельтой беклина-1. В пожилом возрасте выявилась обратная корреляционная связь между количеством жировой массой и дельтой беклина-1.

Таблица 3.8.5 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста у мужчин

Исследуемые группы/возраст	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=17)	-0,20	-0,33	-0,18	-0,18	-0,24	0,09	-0,01	-0,08
Зрелый (I п.)	0,27	0,27	0,96*	0,96*	0,07	0,96*	0,86	-0,66
Зрелый (II п.)	-0,28	-0,58	-0,57	-0,57	-0,23	0,13	-0,22	-0,02
Пожилой	-0,50	-0,50	-0,79	-0,79	-0,87*	-0,79	-0,05	-0,23

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \* достоверность –  $p < 0,05$ .

При исследовании показателей пациентов с различной весовой категорией в зависимости от состава тела, достоверных связей выявлено не было (Таблица 3.8.6).

Таблица 3.8.6 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела у мужчин

Исследуемые группы	Коэффициент корреляции							
	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа	-0,12	-0,14	0,1	0,1	0,1	0,1	0,29	-0,4
Пациенты с ожирением	-0,26	-0,45	-0,27	-0,27	-0,31	0,13	0,02	-0,15

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что весовая категория пациента не играет существенной роли в степени активации аутофагии при ограничении калорийности питания у мужчин. Наиболее значимым фактором, сказывающемся на активности аутофагии, является возраст. В частности, это подтверждается наличием прямых корреляционных связей между дельтой-беклина-1 с мышечной, тощей массой, общим содержанием воды у лиц зрелого возраста I-го периода; у пожилых-наличием отрицательной связи с содержанием общего жира. Фактором, влияющим на изменения липидного спектра крови, также

оказался возраст: в зрелом возрасте I-го периода выявлена отрицательная корреляционная связь между дельтой-бекина-1 и ХС ЛПВП и положительная с ХС ЛПНП, а в пожилом возрасте отрицательные связи с ХС ЛПНП, общим холестерином и положительные связи с ХС ЛПВП.

## ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНДЕРНЫХ И ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ АКТИВНОСТИ АУТОФАГИИ В ИСХОДНОМ СОСТОЯНИИ И ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КОМПЛЕКСНОЙ ОЗДОРОВИТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

### 4.1. Сравнительный анализ показателей активности аутофагии у мужчин и женщин до проведения комплексной оздоровительной программы

Сравнительный анализ выборок по мужчинам и женщинам показал высокую степень вариабельности показателей концентрации беклин-1, причем у мужчин разбросы показателей оказались более значимыми, чем у женщин (от 6,14 пг/мл до 844,78 пг/мл и 4,7 пг/мл - 216,6 пг/мл – соответственно). Для характеристики рядов были выбраны межпроцентильный интервал 5%-95%.

Таблица 4.1.1 – Сравнительный анализ концентрации беклина-1 до КОП в зависимости от возраста у мужчин и женщин (интервал 5%-95%)

Исследуемые группы/возраст	Пол	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.) (n=4)	М	74,1	50,7	25,4	68,1	18,5	141,7	$P_{1-3}=0,14$
Зрелый (I п.) (n=10)	Ж	51,9	39,8	12,6	43,7	4,7	107,4	$P_{2-4}=0,53$
Зрелый (II п.) (n=8)	М	38,3	28,6	10,1	27,5	9,8	87,4	$P_{1-5}=0,37$
Зрелый (II п.) (n=28)	Ж	63,3	51,6	9,76	45,8	12,9	216,6	$P_{2-6}=0,85$
Пожилой (n=5)	М	45,5	39,8	17,8	35,5	13,2	114,5	$P_{3-5}=0,7$
Пожилой (n=12)	Ж	55,9	56,8	16,4	37,5	6,47	176,5	$P_{4-6}=0,69$

Статистический анализ не выявил достоверных различий в концентрации беклина-1 у лиц разных весовых категорий и возрастных групп (Таблица 4.1.1; 4.1.4), хотя различия приближались к статистически значимым значениям ( $p < 0,07$ ; Таблица 4.1.4; группы 9 и 11); среднее значение показателя в разных возрастных группах оказалось у женщин несколько выше, чем у мужчин.

Распределение обследуемых по массе тела (Таблица 4.1.2) также не выявило статистически значимых различий между мужчинами и женщинами, а также в

каждой гендерной группе в зависимости от массы. Следовательно, масса тела, жировая масса не определяли исходный уровень активности аутофагии.

Таблица 4.1.2 – Сравнительный анализ концентрации беклина-1 до КОП в зависимости от массы тела у мужчин и женщин

Исследуемые группы	Пол	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа (n=19)	М	52,1	50,8	22,7	35,5	18,55	141,75	P <sub>1-3</sub> =0,8 P <sub>2-4</sub> =0,53
	Ж	53,58	53,44	12,26	36,26	4,71	216,62	
Пациенты с ожирением (n=34)	М	47,5	35,2	9,9	37,8	9,8	114,5	
	Ж	62,75	48,5	8,71	51,59	6,47	215,44	

Примечание: М-мужчины; Ж-женщины

Таблица 4.1.3 – Сравнительный анализ концентрации беклина-1 у мужчин и женщин до- и после КОП в возрастных периодах до 60 лет и после 60 лет (в межквартильном интервале 25-75%)

Группы	Возраст	Концентрация беклина-1, пг/мл			P
		М <sub>ср.</sub>	Медиана	СОС	
Мужчины до КОП	<60 лет	34,8	23,5	8,8	P <sub>1-2</sub> <0,032 P <sub>1-3</sub> <0,9 P <sub>1-5</sub> <0,03
Мужчины после КОП		76,3	61,9	14,1	
Мужчины до КОП	>60 лет	33,8	35,4	4,0	P <sub>3-4</sub> <0,006 P <sub>3-7</sub> <0,9 P <sub>4-2</sub> <0,4
Мужчины после КОП		62,4	58,9	6,4	
Женщины до КОП	<60 лет	56,8	54,6	4,6	P <sub>5-1</sub> <0,03 P <sub>5-6</sub> <0,1 P <sub>6-2</sub> <0,5
Женщины после КОП		68,8	61,9	5,7	
Женщины до КОП	>60 лет	33,4	30,9	5,6	P <sub>6-8</sub> <0,037 P <sub>7-3</sub> <0,9 P <sub>7-5</sub> <0,008 P <sub>7-8</sub> <0,1
Женщины после КОП		46,7	44,7	6,2	
Мужчины до КОП	все	36,3	30,8	5,3	P <sub>9-10</sub> <0,003 P <sub>9-11</sub> <0,037
Мужчины после КОП		63,8	57,8	3,8	
Женщины до КОП	все	51,9	49,4	6,2	P <sub>11-12</sub> <0,2 P <sub>10-12</sub> <0,002
Женщины после КОП		59,3	54,8	3,8	

Сравнительный анализ уровня беклина-1 в более укрупненных возрастных группах до КОП показал достоверно более низкую концентрацию у мужчин до 60 лет во всей группе по сравнению с показателями у женщин (Таблица 4.1.3).

Аналогичные различия имели место у женщин до 60 лет ( $p < 0,03$ ), а после 60 лет различия уже носили не достоверный характер.

Интересно отметить, что у женщин после 60 лет до проведения КОП концентрация беклина-1 оказалась значительно ниже, чем у женщин до 60 лет ( $p < 0,008$ ). Такого различия не выявлялось у мужчин.

Реакция на КОП существенно различалась у мужчин и женщин как во всей группе, так и отдельных возрастных группах. Так у мужчин КОП вызывал значительный подъем уровня беклина-1 ( $p < 0,003$ ), чего нельзя было сказать относительно женщин. Более того, концентрация беклина-1 после КОП оказалась даже ниже ( $p < 0,002$ ), чем у мужчин.

Гендерные различия в реакциях на КОП заключались в следующем: у мужчин до 60 и после 60 лет концентрация беклина-1 возрастала в 2 раза ( $p < 0,032$  и  $p < 0,006$ -соответственно), а у женщин обеих возрастных групп оставалась на тех же уровнях, либо ниже исходного. При этом, уровень беклина-1 у женщин более 60 лет после КОП значительно ( $p < 0,037$ ) уступал показателям женщин до 60 лет.

Таким образом, исходный уровень беклина-1 характеризуется более высокими его показателями у женщин всей группы, но особенно в возрасте до 60 лет, а в возрастной группе после 60 лет показатели оказались значительно ниже, чем у женщин до 60 лет. Реакция на КОП характеризуется значительной активацией аутофагии у мужчин всей группы, включая лиц до и после 60 лет. У мужчин уровень беклина-1 после КОП достоверно превосходил исходный уровень и уровень беклина-1 после КОП в группе женщин.

Сравнение показателей в разных возрастных группах, разделенных по возрасту согласно классификации ВОЗ, не выявил достоверных различий в концентрации маркера после КОП. Единственная особенность, которую удалось установить (Таблица 4.1.4; группы 2-6) — это наличие более высокого уровня

беклина-1 у женщин молодого возраста в сравнении с пожилыми женщинами ( $p < 0,02$ ).

Таблица 4.1.4 – Сравнительный анализ концентрации беклина-1 у мужчин и женщин после КОП в зависимости от возраста

Исследуемые группы/возраст	Пол	М ср.	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.)	М	152,0	140,6	57,4	94,6	35,0	377,3	$P_{1-3}=0,3$
Зрелый (I п.)	Ж	93,2	55,1	16,6	93,2	26,9	217,7	$P_{1-2}=0,2$
Зрелый (II п.)	М	73,4	47,4	21,2	56,8	21,4	137,4	$P_{2-4}=0,2$
Зрелый (II п.)	Ж	71,7	46,7	8,8	54,4	23,1	184,7	$P_{3-4}=0,9$
Пожилый	М	72,1	37,2	13,2	66,5	33,7	148,3	$P_{1-5}=0,1$
Пожилый	Ж	48,6	25,2	7,6	35,1	19,7	94,9	$P_{2-6}=0,02$ $P_{3-5}=0,9$ $P_{4-6}=0,1$ $P_{5-6}=0,1$

Примечание: М-мужчины; Ж-женщины

Мы посчитали более показательным анализ самой степени активации аутофагии, для чего были проанализированы показатели дельты концентрации беклина-1 в зависимости от исходного в процентах (Таблица 4.1.5 - 4.1.7).

Таблица 4.1.5 – Сравнение концентрации дельты беклина-1 после КОП (в % от исходного) в зависимости от пола (интервал 5%-95%)

Группы	М <sub>ср</sub> , %	$\sigma$	СОС	P
Мужчины (n=20)	125,9	196,5	43,9	$P_{1-2}=0,4$ Хи-квадрат, $p < 0,5$
Женщины (n=49)	86,9	167,3	23,9	

Сравнение показателей дельты у мужчин и женщин без дифференцировки по возрастам и весу (Таблица 4.1.6) не выявил достоверных различий ( $p < 0,4$ ), хотя средние значения у мужчин значительно превышали таковые женщин. Отсутствие различий можно связать с разнонаправленным характером реакции на КОП. Это подтверждается следующими наблюдениями. Как в группе мужчин, так и в группе женщин уровень беклина-1 после КОП у части обследованных снижался. Так, в

группе мужчин из 20 обследованных у 7 человек (35%) было отмечено снижение, а у 13 (65%) повышение уровня беклина-1.

У женщин эта статистика выглядела следующим образом: из 49 обследованных женщин понижение уровня беклина-1 отмечено у 19 (38,7%), а повышение – у 30 (61,3%) женщин. Сравнение с помощью критерия Хи-квадрат не выявил достоверных различий ( $p < 0,95$ ) по частоте встречаемости признака понижения уровня беклина-1. Он был одинаков у мужчин и женщин.

Сравнение показателей дельты в зависимости от веса обследуемых также не выявил достоверных различий между показателями мужчин и женщин (Таблица 4.1.6).

Таблица 4.1.6 – Сравнение дельты концентрации беклина-1 (в % от исходного) в зависимости от веса у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	М ср., %	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Контрольная группа	М	89,6	104,9	46,9	66	-14	261	P <sub>1-3</sub> =0,4 P <sub>2-4</sub> =0,6
Контрольная группа	Ж	124,5	236,3	55,7	32,5	-49	822	
Пациенты с ожирением	М	219,5	321,7	92,9	66,5	-40	987	
Пациенты с ожирением	Ж	194,0	194,0	33,7	41	-65	989	

Примечание: М-мужчины; Ж-женщины

Сравнение показателей дельты в зависимости от возраста (Таблица 4.1.7.) не выявил гендерных различий, однако выявил значительную активацию у женщин пожилого возраста по сравнению с женщинами зрелого возраста II-го периода ( $p < 0,02$ ). Интересным является тот факт, что исходные уровни беклина-1 в этих группах достоверно не отличались.

Также не было обнаружено корреляционной связи между показателями дельты беклина-1 и продолжительностью полной пищевой депривации (у мужчин  $r = -0,2$ ; у женщин  $r = 0,2$ ).



Таблица 4.1.7 – Сравнение дельты концентрации беклина-1 (в % от исходного) после КОП в зависимости от возраста у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	М ср., %	$\sigma$	$m_0$	Медиана	Min	Max	P
Зрелый (I п.)	М	164,7	234,9	117,5	123,5	-40	452	$P_{1-3}=0,78$
Зрелый (I п.)	Ж	57,5	109,3	32,9	31,0	-51	333	$P_{2-4}=0,95$
Зрелый (II п.)	М	222,1	358,9	126,9	66,5	-35	987	$P_{1-5}=0,81$
Зрелый (II п.)	Ж	60,0	108,3	20,4	35,0	-65	379	$P_{2-6}=0,12$
Пожилой	М	129,2	191,1	85,4	66,0	-17	462	$P_{3-5}=0,61$
Пожилой	Ж	239,0	361,4	104,3	102,5	-63	989	$P_{4-6}=0,02$

Примечание: М-мужчины; Ж-женщины

#### 4.2. Сравнение корреляционных связей у мужчин и женщин между активностью аутофагии и исследуемыми морфофизиологическими параметрами

Сопоставление тесноты корреляционных связей между уровнем беклина-1 и исследуемыми параметрами до КОП показал достоверные связи только у женщин зрелого возраста I-го периода (Таблица 4.2.1) между весом и индексом массы тела ( $r=0.63$ ;  $p<0,05$ ), а у пожилых женщин прямая связь между возрастом и уровнем беклина-1 ( $r=0,57$ ;  $p<0,05$ ); у мужчин такие связи отсутствовали.

Таблица 4.2.1 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста до КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции								
		Возраст	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=17)	М	-0,23	0,02	-0,03	0,21	0,21	-0,1	0,21	0,11	0,2
Вся группа (n=50)	Ж	0,06	-0,09	-0,07	0,06	0,06	-0,08	0,06	-0,03	0,11
Зрелый (I п.)	М	0,24	0,0	-0,12	0,39	0,39	-0,02	0,39	0,49	0,27
Зрелый (I п.)	Ж	0,12	0,63*	0,63*	0,06	0,06	0,54	0,06	-0,12	0,1
Зрелый (II п.)	М	0,01	0,19	0,2	-0,02	-0,02	0,35	-0,02	0,2	-0,2
Зрелый (II п.)	Ж	-0,05	-0,25	-0,22	0,11	0,11	-0,24	0,11	-0,05	0,2
Пожилой	М	-0,02	0,32	0,24	0,76	0,76	-0,02	0,76	0,22	0,84*
Пожилой	Ж	0,57*	-0,05	-0,05	-0,05	-0,05	0,03	-0,05	-0,00	-0,07

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \*достоверность –  $p < 0,05$ .

Таблица 4.2.2 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела до КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции								
		Возраст	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа	М	-0,41	0,38	-0,16	0,52	0,52	0,14	0,52	0,96**	0,03
Контрольная группа	Ж	0,24	-0,01	0,07	0,1	0,1	0,24	0,1	0,08	0,04
Пациенты с ожирением	М	-0,04	0,04	0,03	0,62*	0,62*	-0,07	0,62*	0,06	0,47
Пациенты с ожирением	Ж	-0,15	-0,26	-0,24	0,07	0,07	-0,2	0,07	-0,07	-0,15

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

При сравнении корреляционных связей (Таблица 4.2.2) в зависимости от массы у мужчин с ожирением до КОП выявлялись достоверные ( $p < 0,05$ ) корреляционные связи между мышечной, тощей массой, общей водой и уровнем беклина-1. У женщин таких связей не выявлялось.

При анализе корреляционных связей до КОП во всей группе с количеством форменных элементов крови и гемоглобином (Таблица 4.2.3) выявлялась слабая отрицательная связь у женщин с гемоглобином ( $r = -0,25$ ;  $p < 0,05$ ) и положительная связь с количеством эозинофилов ( $r = 0,53$ ;  $p < 0,01$ ). Аналогичная связь с более высокими показателями выявлялась у женщин зрелого возраста II-го периода (Таблица 4.2.3; группа б). У мужчин такая связь подтвердилась с количеством эозинофилов ( $r = 0,99$ ;  $p < 0,01$ ).

Следовательно, общим для мужчин и женщин являются корреляционные связи между активностью аутофагии и количеством эозинофилов до КОП. Особенностью в группе женщин явилось наличие отрицательной корреляционной связи с уровнем гемоглобина.

Таблица 4.2.3 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями общего анализа крови в зависимости от возраста до КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции									
		Эр.	Гем.	Лейк.	Баз.	Эоз.	Нейт.	Лимф.	Мон.	СОЭ	ИИ
Вся группа (n=17)	М	0,06	0,11	0,26	0,37	0,37	-0,23	0,04	0,3	0,09	0,03
Вся группа (n=50)	Ж	-0,23	-0,25*	-0,09	0,04	0,53**	-0,09	0,03	-0,14	-0,02	0,11
Зрелый (I п.)	М	0,8	0,8	0,4	1,00**	0,99**	0,1	-0,63	0,83	0,82	0,5
Зрелый (I п.)	Ж	-0,35	-0,27	0,09	-0,52	0,36	0,52	-0,35	-0,52	-0,24	0,33
Зрелый (II п.)	М	0,01	-0,07	0,47	-0,2	-0,3	-0,2	0,2	0,09	0,6	-0,17
Зрелый (II п.)	Ж	-0,23	-0,34 *	-0,15	0,34	0,71**	-0,21	-0,00	0,22	-0,00	0,27
Пожилой	М	0,03	0,26	0,76	-0,45	0,13	-0,4	0,55	0,13	-0,13	0,32
Пожилой	Ж	-0,23	0,08	-0,11	-0,36	0,04	-0,08	-0,25	-0,59*	-0,07	-0,41

Примечание: Эр. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Эоз. – эозинофилы; Нейт. – нейтрофилы сегментоядерные; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; И.И. – индекс интоксикации; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Анализ корреляционных связей до КОП в зависимости от исходной массы выявил наличие обратных связей у женщин с нормальным весом с уровнем гемоглобина и количеством эритроцитов (Таблица 4.2.4; группа 2) и положительных связей с количеством эозинофилов ( $r=0,48$ ;  $p < 0,05$ ). У мужчин с нормальным весом также как у женщин выявлялась достоверная связь с эозинофилами ( $r=0,97$ ;  $p < 0,05$ ), а у лиц с ожирением-с лейкоцитами. Лейкоцитоз можно объяснить тем, что жировая ткань является одним из источников провоспалительных цитокинов [Jun-Ming Z., Jianxiong A., 2007].

Таблица 4.2.4 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями общего анализа крови в зависимости от массы тела до КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы	Пол	Коэффициент корреляции									
		Эр.	Гем.	Лейк.	Баз.	Эоз.	Нейт.	Лимф.	Мон.	СОЭ	ИИ
Контрольная группа	М	0,62	0,42	-0,06	0,97	0,97*	-0,35	-0,04	0,68	-0,11	0,76
Контрольная группа	Ж	-0,68**	-0,55**	0,03	0,00	0,48*	0,26	-0,28	-0,24	0,18	0,25
Пациенты с ожирением	М	-0,21	-0,09	0,52*	-0,54	-0,39	-0,13	0,16	0,07	0,24	-0,18
Пациенты с ожирением	Ж	0,01	-0,03	-0,18	0,07	0,58**	-0,3	0,2	-0,05	-0,11	0,03

Примечание: Эрит. – эритроциты; Гем. – гемоглобин; Лейк. – лейкоциты; Баз. – базофилы; Эоз. – эозинофилы; Нейт. – нейтрофилы сегментоядерные; Лимф. – лимфоциты; Мон. – моноциты; И.И. – индекс интоксикации; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$ .

Таким образом, до КОП для женщин среднего возраста характерно наличие прямых корреляционных связей между уровнем беклина-1 и количеством эозинофилов. Особенностью у женщин является наличие отрицательной корреляционной связи с уровнем гемоглобина.

Что касается показателей липидного спектра (Таблица 4.2.5), то и у зрелых женщин I-го периода, и у мужчин зрелого возраста II-го периода до КОП выявлена отрицательная корреляционная зависимость беклина-1 с ХС ЛПВП. Кроме того, у мужчин с ожирением выявляется прямая связь с уровнем триглицеридов ( $r=0,57$ ;  $p < 0,05$ ), чего не отмечалось у женщин.

Таблица 4.2.5 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от массы тела до КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы	Пол	Коэффициент корреляции			
		ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа	М	0,76	-0,17	0,31	-0,36
Контрольная группа	Ж	0,25	0,05	0,33	-0,1
Пациенты с ожирением	М	-0,18	-0,21	0,16	0,57*
Пациенты с ожирением	Ж	0,03	-0,07	0,05	-0,2

Примечание: \* достоверность –  $p < 0,05$ .

Пищевая депривация изменила соотношение взаимосвязей, что проявилось появлением корреляций после КОП у мужчин с весом, индексом массы тела и жировой массой (Таблица 4.2.6) во всей группе без дифференцировки по возрасту и массе. Особенно явно эта связь прослеживалась у мужчин средне-пожилого возраста и у женщин зрелого возраста II-го периода.

Таблица 4.2.6 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста после КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции							
		Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=18)	М	0,46*	0,48*	0,2	0,2	0,62**	0,37	0,2	0,05
Вся группа (n=50)	Ж	0,05	0,03	0,01	0,01	0,04	0,01	-0,03	0,03
Зрелый (I п.)	М	0,68	0,69	-0,35	-0,35	-0,74	-0,35	0,11	-0,32
Зрелый (I п.)	Ж	0,18	0,34	0,19	0,2	0,5	0,21	0,37	-0,08
Зрелый (II п.)	М	0,73**	0,76**	0,35	0,35	0,76**	0,46	0,27	0,13
Зрелый (II п.)	Ж	0,32*	0,3	-0,15	-0,15	0,29	-0,15	-0,23	-0,4
Пожилой	ж	-0,33	-0,34	0,34	0,34	-0,36	0,34	0,34	0,25

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \*достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\*достоверность –  $p < 0,01$ .

Таблица 4.2.7 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела после КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы	Пол	Коэффициент корреляции							
		Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа	М	0,02	-0,09	-0,03	-0,03	0,13	0,5	-0,16	0,12
Контрольная группа	Ж	0,17	0,29	0,006	0,01	0,38*	0,02	0,13	-0,08
Пациенты с ожирением	М	0,43	0,45	0,38	0,38	0,82*	0,38	0,36	-0,07
Пациенты с ожирением	Ж	-0,008	-0,05	0,02	0,02	-0,02	0,02	-0,09	0,09

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \*достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\*достоверность –  $p < 0,01$ .

Таким образом, если брать во внимание возрастные особенности, то общим у мужчин и женщин реакция на КОП является наличие положительных корреляционных связей с весом у мужчин и женщин зрелого возраста II-го периода, а отличием является наличие прямой достоверной связи у мужчин зрелого II п.-пожилого возраста с жировой массой (группа 5, Таблица 4.2.6). Наличие корреляционных связей после КОП с жировой массой было выявлено у женщин с нормальной массой и у мужчин с ожирением (Таблица 4.2.7).

Таблица 4.2.8 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста после КОП у мужчин и женщин

Возрастные группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции			
		ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=18)	М	-0,25	0,21	-0,1	0,17
Вся группа (n=50)	Ж	-0,11	0,34*	-0,18	-0,24
Зрелый (I п.)	М	-0,59	0,52	0,17	0,18
Зрелый (I п.)	Ж	-0,47	0,58	0,02	-0,6
Зрелый (II п.)	М	0,13	0,13	0,49	0,13
Зрелый (III п.)	Ж	-0,02	0,53*	-0,29	-0,27
Пожилой	Ж	0,43	-0,6	0,06	0,27

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

Таблица 4.2.9 – Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от веса после КОП у мужчин и женщин

Исследуемые группы	Пол	Коэффициент корреляции			
		ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа	М	-1,0**	0,98*	-1,0**	-0,7
Контрольная группа	Ж	-0,16	0,61**	0,003	-0,28
Пациенты с ожирением	М	-0,3	0,1	-0,1	0,3
Пациенты с ожирением	Ж	-0,08	0,07	-0,28	-0,17

Примечание: \*достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\*достоверность –  $p < 0,01$ .

Что касается липидного спектра, то после КОП зафиксирована положительная корреляционная зависимость между концентрацией беклина-1 и ХС ЛПВП у женщин во всей группе (Таблица 4.2.8), а также у женщин зрелого возраста II-го периода ( $r=0,53$ ;  $p < 0,05$ ). У мужчин подобных корреляций после КОП не выявлялось. Однако, положительные корреляционные связи между ХС ЛПВП и уровнем беклина-1 у лиц с нормальным весом (Таблица 4.2.9) были выявлены, при анализе этих показателей в зависимости от веса. Этот признак оказался для мужчин и женщин общим.

Следовательно, как у мужчин, так и у женщин, ограничение калорийности питания сопровождается наряду с повышением активности аутофагии ростом холестериновой фракции ХС ЛПВП. Анализ абсолютных значений изменений концентрации ХС ЛПВП, показал, что и лежат в пределах физиологических колебаний и не сопровождаются патологическим ростом указанной фракции.

Таблица 4.2.10 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от возраста у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции							
		Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа (n=17)	М	-0,2	-0,33	-0,18	-0,18	-0,24	0,09	-0,01	-0,08
Вся группа (n=51)	Ж	-0,13	-0,14	0,04	0,07	-0,01	0,07	-0,11	0,17
Зрелый (I п.)	М	0,27	0,27	0,96*	0,96*	0,07	0,96*	0,86	-0,66
Зрелый (I п.)	Ж	-0,27	-0,32	0,27	0,27	0,4	0,26	-0,12	0,18
Зрелый (II п.)	М	-0,28	-0,58	-0,57	-0,57	-0,23	0,13	-0,22	-0,02
Зрелый (II п.)	Ж	0,12	0,12	0,48**	0,49**	0,22	0,49**	-0,04	0,54**
Пожилой	М	-0,5	-0,5	-0,79	-0,79	-0,87*	-0,79	-0,05	-0,23
Пожилой	Ж	-0,65*	-0,61*	-0,27	-0,2	-0,04	-0,2	-0,04	-0,01

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода; \* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Кроме того, общие закономерности выявляются у мужчин зрелого возраста I-го периода и у женщин зрелого возраста II-го периода, которые характеризовались в наличие положительной корреляционной связи между дельтой беклина-1 и мышечной, тощей массы и общей водой (Таблица 4.2.10). Отличительной чертой у мужчин пожилого возраста является наличие отрицательной корреляционной связи с жировой массой.

Этот факт может говорить о том, что жировая масса или ее избыток тормозят активность аутофагии в пожилом возрасте у мужчин в случае ограничения калорийности питания. Однако, анализ величины активизации аутофагии не выявил достоверных корреляционных связей с показателями состава тела (Таблица 4.2.11). Следовательно, описанные ранее корреляционные связи, по-видимому, являются прерогативой возраста.

Следует еще раз подчеркнуть, что активность аутофагии хорошо иллюстрирует показатель «дельта-беклина-1» — это разница между исходным уровнем и определенного через 12 дней, выраженного в процентах.

Таблица 4.2.11 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями состава тела в зависимости от массы тела у мужчин и женщин

Исследуемые группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции							
		Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Контрольная группа	М	-0,12	-0,14	0,1	0,1	0,1	0,1	0,29	-0,4
Контрольная группа	Ж	-0,3	-0,37	-0,31	-0,14	-0,14	-0,14	-0,18	0,14
Пациенты с ожирением	М	-0,26	-0,45	-0,27	-0,27	-0,31	0,13	0,02	-0,15
Пациенты с ожирением	Ж	0,01	0,02	0,19	0,19	0,14	0,19	-0,06	0,24

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода



Таблица 4.2.12 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от возраста у мужчин и женщин

Возрастные группы/возраст	Пол	Коэффициент корреляции			
		ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Вся группа (n=17)	М	0,18	0,02	0,21	0,19
Вся группа (n=51)	Ж	0,18	-0,17	0,31*	0,04
Зрелый (I п.)	М	0,94*	-0,91*	0,59	-0,32
Зрелый (I п.)	Ж	-0,19	-0,12	0,05	0,22
Зрелый (II п.)	М	0,44	-0,41	0,5	0,46
Зрелый (II п.)	Ж	-0,03	-0,35*	0,23	-0,08
Пожилой	М	-0,99*	0,94**	-0,98**	-0,33
Пожилой	Ж	0,59*	0,05	0,74**	0,19

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

Что касается связей с липидным обменом (Таблица 4.2.12), то у мужчин зрелого возраста I-го периода и у женщин зрелого возраста II-го периода выявляется отрицательная связь с показателями ХС ЛПВП после КОП и дельтой беклина-1, а положительная связь у мужчин зрелого возраста I-го периода и у женщин пожилого возраста между ХС ЛПНП и дельтой беклина-1.

Наиболее физиологичные связи установлены у мужчин пожилого возраста, характеризующиеся отрицательными связями дельта-беклина-1 с уровнем ХС ЛПНП и холестерином и положительной связи с ХС ЛПВП. Подобных связей у женщин ни в одной из возрастных категорий выявлено не было.

Таблица 4.2.13 – Корреляционный анализ между дельтами концентрации беклина-1 и показателями липидного спектра в зависимости от массы тела у мужчин и женщин

Исследуемые группы	Пол	Коэффициент корреляции			
		ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	Общий холестерин	Триглицериды
Контрольная группа	М	0,29	-0,6	0,55	0,3
Контрольная группа	Ж	0,35	-0,19	0,53*	0,54*
Пациенты ожирением	с М	0,2	0,006	0,25	0,32
Пациенты ожирением	с Ж	0,11	-0,15	0,28	-0,15

Примечание: \* достоверность –  $p < 0,05$

Интересным фактом является то, что при группировании обследованных по весовой категории, выявлялись прямые достоверные связи лишь у женщин с нормальным весом (Таблица 4.2.13) между общим холестерином, триглицеридами и дельтой беклина-1. У мужчин такой закономерности не выявлялось.

Из этого можно предположить, что у лиц с нормальным весом активация аутофагии обеспечивает, по-видимому, физиологические концентрации общего холестерина и триглицеридов.

#### **4.3. Особенности процесса аутофагии у лиц с избыточной массой тела и сахарным диабетом типа 2 в условиях проведения комплексной оздоровительной программы**

Как показал сравнительный анализ абсолютных значений концентрации беклина-1 в группе с избыточной массой тела и сахарным диабетом (СД) 2 типа (Таблица 4.3.1; гр. 1-2) уровень беклина-1 статистически превосходил уровни у пациентов с ИМТ  $< 30 \text{ кг/м}^3$  без признаков диабета ( $p < 0,036$ ) и признаков ожирения.

Концентрация беклина-1 у лиц с ожирением в сочетании с СД 2 типа также отличалась от группы с ИМТ  $<30$  кг/м<sup>2</sup> и без СД-2.

Реакция организма на КОП характеризовалась тем, что у пациентов с СД 2 типа и СД 2 типа в сочетании с ожирением, не выявлялось признаков активации аутофагии. Такая картина была обусловлена разнонаправленными изменениями концентрации беклина-1 как в сторону ее снижения (10 пациентов), так и в сторону повышения (10 пациентов).

Таблица 4.3.1 - Концентрация беклина-1 у лиц с сахарным диабетом 2 типа

Исследуемая группа	Мср. $\pm$ m <sub>0</sub>	Достоверность
Группа с СД2 до КОП (n=20)	64,0 $\pm$ 10,1	P <sub>1-2</sub> <0,036
Вся группа с СД2 после КОП (n=18)	63,4 $\pm$ 9,4	
ИМТ $\geq$ 30 + СД2 до КОП (n=18)	63,6 $\pm$ 8,5	P <sub>2-1</sub> <0,51
ИМТ $\geq$ 30 + СД2 после КОП (n=18)	77,0 $\pm$ 13,3	
ИМТ <30 без СД2 до КОП (n=19)	37,4 $\pm$ 7,1	P <sub>3-5</sub> <0,021
ИМТ <30 без СД2 после КОП (n=19)	59,4 $\pm$ 7,7	P <sub>4-3</sub> <0,38
СД2 до (n=15)	66,7 $\pm$ 10,2	P <sub>5-6</sub> <0,046
СД2 после (n=15)	71,0 $\pm$ 13,0	
		P <sub>7-8</sub> <0,763

Отличительной чертой реакции аутофагии у лиц с ИМТ  $<30$  кг/м<sup>2</sup> без признаков диабета была выраженная реакция активации аутофагии с достоверным (p <0,043) подъемом уровня беклина-1.

Если прибегнуть к анализу корреляционных связей у лиц с СД 2 типа между содержанием беклина-1 и компонентами состава тела, то можно видеть (Таблица 4.3.2), что до проведения КОП никаких корреляционных связей не выявлялось, однако после проведения КОП достоверные положительные корреляционные связи выявлялись с весом, ИМТ, мышечной, тощей, жировой массами и внутриклеточной водой.

Таблица 4.3.2 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 (пг/мл) и показателями состава тела у лиц с сахарным диабетом 2 типа

Исследуемая группа	Коэффициент корреляции								
	Возраст	Вес	ИМТ	М. М.	Т. М.	Ж. М.	ОВТ	Внек. В.	Внут. В.
Вся группа СД2 до КОП (n=20)	-0,9	0,06	0,04	0,12	0,12	-0,01	0,12	0,15	0,1
Вся группа СД2 после КОП (n=18)	0,27	0,7**	0,64**	0,53*	0,53*	0,65**	0,53	0,37	0,58**

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; М.М. – мышечная масса; Т.М. – тощая масса; Ж.М. – жировая масса; ОВТ – общая вода тела; Внек. В. – внеклеточная вода; Внут. В. – внутриклеточная вода.  
\* достоверность –  $p < 0,05$ ; \*\* достоверность –  $p < 0,01$

Следует отметить, что уровень беклина-1 у пациентов с избыточной массой тела и СД 2 типа положительно коррелировал с лейкоцитарным индексом интоксикации до проведения КОП ( $r=0,49$ ;  $p < 0,05$ ).

При рассмотрении взаимосвязи между базовой концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра крови (Таблица 4.3.3) были выявлены положительные корреляционные связи с показателями ХС ЛПНП и ОХ. После проведения КОП эти связи уже не выявлялись.

Таблица 4.3.3 - Корреляционный анализ между концентрацией беклина-1 и показателями липидного спектра у лиц с сахарным диабетом 2-го типа

Исследуемая группа	Коэффициент корреляции			
	ХС ЛПНП	ХС ЛПВП	ОХ	ТГ
Вся группа СД2 до КОП (n=20)	0,49*	-0,06	0,41*	-0,09
Вся группа СД2 после КОП (n=18)	0,03	-0,03	-0,16	-0,11

Примечание: \* достоверность –  $p < 0,05$ .

При анализе степени активации аутофагии, оцениваемой по показателю «дельты-беклина-1» обращает на себя внимание положительная корреляционная связь ( $r=0,5$ ;  $p < 0,05$ ) с массой жировой ткани. Наличие такой связи может говорить о доминирующем источнике беклина-1 в форме жировой массы.

В отличие от описанной картины у пациентов с ИМТ  $<30$  кг/м<sup>2</sup> и не имеющих СД 2 типа реакция на КОП оказалась выраженной, с достоверным увеличением концентрации беклина-1.

Данные исследования показали, что наличие СД 2 типа и ожирения является триггером активации аутофагии. У таких пациентов уровень базовой активности аутофагии достоверно оказался выше, чем у лиц, не имеющих сопутствующую патологию. Можно предположить, что в таких случаях аутофагия выступает в качестве физиологического регулятора нарушенных биохимических функций, выполняя роль репаративной аутофагии [А.Б. Пупышев, 2014].

## ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с задачами в предпринятом исследовании выявлялись зависимости активности аутофагии с возрастом, полом, морфологическими и отдельными клинико-биохимическими показателями, а также у лиц с избыточной массой тела и СД-2 типа.

Для реализации поставленной в работе цели был выбран биохимический маркер, характеризующий интенсивность процесса аутофагии – белок беклин-1 (Beclin-1). В 2001 году Tamotsu Yoshimori [Kihara A. et al., 2001] было доказано, что Beclin-1 образует комплекс фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), который инициирует зарождение и образование мембраны аутофагосомы и играет на начальных этапах аутофагии ключевую роль [Margariti A. et al., 2013; Ashkenazi A. et al., 2017]

В связи с этим, Beclin-1 является общепризнанным маркером аутофагии у млекопитающих, включая человека.

Было установлено, что во всей исследуемой группе (n=87) концентрация беклина-1 имеет очень большие вариации от 0,1 до 1014,44 пг/мл. Наличие такого разброса мотивировало использование показателей в межпроцентильном интервале 5%-95%, а в некоторых случаях в межквартильном интервале 25%-75%.

В межпроцентильном интервале 5%-95% (n=77) значения уровня концентрации беклина-1 различались в широком диапазоне 6,1-459,7 пг/мл, где среднее значение составляло 72,8 пг/мл, медиана – 44,3 пг/мл, стандартное отклонение  $\pm 82,44$  пг/мл.

Анализ корреляционных связей до проведения курса комплексной оздоровительной программы (КОП), включающей ограничение калорийности питания, выявил положительную достоверную корреляционную зависимость между возрастом в группе после 60 лет и уровнем беклина-1. Однако, КОП позволила выявить отрицательные достоверные корреляционные зависимости между возрастом и беклином-1 как во всей группе ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,01$ ), так и особенно у лиц с ИМТ  $> 30$  кг/м<sup>2</sup> ( $r = -0,59$ ;  $p < 0,01$ ). В подтверждение этим фактам были получены данные о повышенной активности генов аутофагии в биоптатах жировой

ткани у лиц с ожирением [Kovsan J. et al., 2011]. При этом авторы не обнаружили гендерных отличий в активности исследуемых генов.

На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что в условиях КОП и ограничения получаемых калорий, у лиц с ожирением интенсивность аутофагии снижается с увеличением возраста. Доказательством этому является тот факт, что у лиц до 60 лет концентрация беклина-1 высоко достоверно ( $p < 0,0001$ ) превышала концентрацию в группе лиц после 60 лет в условиях КОП. В то же время в этой группе с повышением возраста активность аутофагии снижалась. Интересным является тот факт, что у лиц после 60 лет до проведения курса КОП выявлялась достоверная прямая корреляционная зависимость между возрастом и уровнем беклина-1 ( $r=0,44$ ;  $p < 0,05$ ). Эта особенность характерна именно для лиц старше 60 лет, что несколько противоречит ранее описанной нами обратной зависимости. Полученные данные свидетельствуют о том, что определяющим фактором активности аутофагии является возраст, а затем следует масса тела. Увеличение активности аутофагии в исходном состоянии в группе лиц после 60 лет с возрастом можно было бы объяснить процессами саркопении, которая наблюдается у лиц пожилого возраста [Chen W., et al., 2022]. Исследования в этом направлении подтверждают высказанную мысль [Lee D. E., et al., 2019], но не являются окончательными.

Положительная корреляционная связь, отмеченная у лиц с ИМТ  $< 30 \text{ кг/м}^2$  между мышечной, тощей массой и уровнем беклина-1 ( $r=0,39$ ;  $p < 0,05$ ) может косвенно говорить об источнике поступления беклина-1 в кровь. Важно отметить, что в этой группе концентрация беклина-1 изменялось параллельно содержанию общей ( $r=0,39$ ;  $p < 0,05$ ) и внеклеточной ( $r=0,47$ ;  $p < 0,01$ ) воды. Эта связь вполне логична, так как биохимическая составляющая активации белка беклина-1 сопровождается образованием эндогенной воды. Подобные закономерности отсутствовали в группе лиц с ожирением до КОП и во всей группе после КОП. Из этих данных вытекает еще один практический вывод о том, что для оптимального поддержания активности аутофагии у лиц с ИМТ  $< 30 \text{ кг/м}^2$  мышечную массу целесообразно сохранять (или наращивать) в пределах 13,0-18,0 кг (16,0-22,0%).

Если предположить, что мышечная масса является одним из источников аутофагии, то подобная рекомендация выглядит обоснованной. Аналогичные оптимумы можно было выделить для общей воды (32,0-36,0 кг) (40,0-45,0%) и внеклеточной воды (11,0-16,0 кг) (14,0-20,0%). Это диктует необходимость потребления адекватного количества жидкости для поддержания на оптимальном уровне активности аутофагии.

Тот факт, что после КОП выявленные ранее корреляционные связи не обнаруживаются может свидетельствовать о разнонаправленных реакциях аутофагии у каждого обследованного.

Такие связи без учета гендерных особенностей отсутствовали с показателями клинического и биохимического анализа крови до КОП, а после КОП выявлялась слабая ( $r=0,34$ ;  $p < 0,05$ ) корреляционная связь между уровнем беклина-1 и ХС ЛПВП. Из полученных данных можно предположить, что для поддержания концентрации ХС ЛПВП на уровне 1,2-1,9 ммоль/л концентрация беклина-1 должна быть в пределах 20,0-125,0 пг/мл.

При анализе данных у лиц с заведомо высокими и низкими показателями беклина-1 (ниже и выше диапазона 5%-95%) выявлены прямые корреляционные связи с весом, ИМТ, жировой массой и обратные связи с ХС ЛПВП. Другими словами, очень низкие показатели и очень высокие следует рассматривать как показатели, выходящие за норму активности аутофагии.

В литературе появились результаты исследований, в основном на животных, утверждающих факт повышения активности аутофагии при ограничении калорийности питания [Baerga R., et al., 2009; Kume S., et al., 2010; Guo J.Y., et al., 2016].

В наших исследованиях на людях мы установили, что на фоне потребления 800 ккал/сутки и менее активность аутофагии снижается с увеличением возраста ( $r=-0,61$ ;  $p < 0,01$ ). Но если человек потреблял более 800 ккал в сутки, то активность аутофагии зависела от массы тела ( $r=0,42$ ;  $p < 0,01$ ), ИМТ ( $r=0,36$ ;  $p < 0,05$ ) и жировой массы ( $r=0,42$ ;  $p < 0,05$ ), а возраст уже не играл ведущей роли. Однако и в случае питания с общим калоражем  $>800$  ккал/сутки отмечены благоприятные с



физиологической точки зрения связи с уровнем ХС ЛПВП ( $r=0,66$ ;  $p < 0,01$ ) и триглицеридами ( $r=-0,34$ ;  $p < 0,05$ ). В абсолютных значениях концентрация беклина-1 в этих двух группах не отличалась ( $p < 0,7$ ).

Для оценки уровня активности процесса аутофагии мы ввели новый показатель «дельта-беклин-1», характеризующий направленность изменений (повышение или понижение) и степень изменений в процентах от исходного.

Используя этот показатель, было установлено, что реакция на КОП у обследованных может носить разнонаправленный характер. Так, из всей группы, входящей в межперцентильный интервал 5%-95%, повышение активности аутофагии после КОП отмечено у 63,6%, а понижение у 36,4%. Из этого фрагмента становится очевидным, что принимать как аксиому тезис о том, что ограничение калорийности питания приводит к активации аутофагии следует с определенной долей допуска.

Интересно отметить, что у тех лиц, у которых после КОП отмечено повышение уровня беклина-1, имели место отрицательные корреляционные связи с уровнем гемоглобина ( $r=-0,29$ ;  $p < 0,05$ ) и положительны – с количеством нейтрофилов ( $r=0,28$ ;  $p < 0,05$ ).

У тех пациентов, которые в перспективе после КОП реагировали снижением уровня беклина-1 от исходного, выявлены отрицательные корреляционные связи с возрастом ( $r=-0,4$ ;  $p < 0,05$ ), положительные связи с мышечной и тощей массой ( $r=0,35$ ;  $p < 0,05$ ), общей и внеклеточной жидкостью ( $r=0,35$ ;  $p < 0,05$  и  $r=0,48$ ;  $p < 0,01$  – соответственно). Учитывая наличие положительной связи беклина-1 и мышечной массы в группе, в которой активность после КОП снизилась, можно предположить, что сниженная активность аутофагии во многом определялась объемом мышечной массы. В этом нет никаких противоречий, так как установлена активная функция мышечной ткани в регуляции аутофагии [Dethlefsen M.M., et al., 2018]. Однако, главным фактором, определяющим степень активации аутофагии у обследованных с отрицательной дельтой, являлся возраст. Эта же закономерность сохраняется и после КОП ( $r=-0,35$ ;  $p < 0,05$ ). В противоположность этому у лиц с положительной дельтой по беклину-1 до КОП никаких корреляционных связей не выявлялось, но

после КОП факторами, связанными с активностью аутофагии являлись вес ( $r=0,25$ ;  $p < 0,05$ ), ИМТ ( $r=0,3$ ;  $p < 0,05$ ) и жировая масса ( $r=0,27$ ;  $p < 0,05$ ).

Что касается липидного спектра, то отмечено, что у людей, реагирующих на КОП снижением уровня беклина-1, выявлялась достоверная ( $r=-0,38$ ;  $p < 0,05$ ) отрицательная корреляционная связь между уровнем беклина-1 и концентрацией общего холестерина. Из этого фрагмента можно сделать заключение, что реакция в виде снижения активности аутофагии ниже исходного уровня следует рассматривать как неблагоприятную.

В то же время была выявлена прямая достоверная связь ( $r=0,34$ ;  $p < 0,05$ ) между ХС ЛПВП и беклином-1 у лиц в пожилом возрасте.

Исходя из этого диетические программы, используемые для коррекции липидного спектра, должны нести в себе компоненты, активирующие процесс аутофагии. Эти реакции на фоне гипокалорийного питания имеют важный физиологический смысл как элемент антиатеросклеротического действия.

В литературе широко дискутируется вопрос о целесообразности различных вариантов воздержания от пищи. В обосновании этих методик и рекомендаций лежит тезис об активации процесса аутофагии и получении соответствующих положительных эффектов у человека. Но как показал анализ научной литературы целенаправленные исследования этих реакций на фоне ограничения или полного отказа от пищи у людей практически отсутствуют.

В нашей работе в отдельной группе были проанализированы данные 31 обследованных, которые находились на полной пищевой депривации (голод на воде) разной продолжительности, с последующим переходом на питание с ограниченным калоражем (800-1200 ккал/сут). Забор крови осуществлялся в первый день пребывания в центре и на 12 сутки.

Было установлено, что концентрация беклина-1 до КОП и после КОП во всей группе достоверно не отличалась. Однако у лиц старше 60 лет концентрация беклина-1 после КОП достоверно ( $p < 0,04$ ) превышала исходный уровень ( $22,1 \pm 5,6$  пг/мл – до КОП;  $47,1 \pm 9,0$  пг/мл – после КОП;  $M_{cp} \pm m_0$ ;  $p < 0,04$ ). Не

обнаруживались значимые различия между показателями у мужчин и женщин как до КОП, так и после КОП.

Интересные данные выявились при анализе показателя «дельты» беклина-1. Так, из 28 обследованных, входящих в межперцентильный интервал 5%-95%, у 17 (61,0%) человек отмечена активация процесса аутофагии (положительная дельта), а у 11 (39,0%) человек снижение активности ниже исходного (отрицательная дельта). Реакция на голод оказалась разнонаправленной и волнообразной. Учитывая, что обследованные голодали разное по продолжительности время, фактически были проанализированы остаточные эффекты аутофагии на 12 суток. При анализе этих данных выявлялись 2 типа активности: у проголодавших 4-5 суток и 11-12 суток активность аутофагии возрастала; у голодавших более 1-3 суток активность аутофагии снижалась, а у голодавших 9-10 суток она была даже ниже исходного уровня.

Различия, порою противоположные, в реакциях на ограничение поступающих с пищей калорий, вероятно, могут быть связаны со степенью стрессогенности оздоровительной программы, в частности, с ограничением потребляемых калорий. Основным стрессовым фактором в используемой оздоровительной программе является голод, который включает стрессовые механизмы особенно в первые дни КОП. В первые 2-4 суток – стадия пищевого возбуждения (или стадия «тревоги») характеризуются «сосущими» болями в кишечнике, головными болями, повышенным чувством голода. Уже через несколько часов активизируется распад гликогена [Методические рекомендации по дифференцированному применению разгрузочно-диетической терапии (РДТ) при некоторых внутренних и нервно-психических заболеваниях. Москва, 1990. 28 с.; Применение разгрузочно-диетической терапии (РДТ) в восстановительной медицине. Москва, 2005. 19 с.]. Гликолиз обеспечивает организм энергией на 16-18 часов, а затем включаются механизмы глюконеогенеза. Однако на первых порах биологическая целесообразность в стадию тревоги аутофагия уходит на «задний план». Более того, у части обследованных реакция тревоги сопровождалась снижением активности аутофагии и снижением маркера активности – беклина-1

ниже исходного уровня. Организм в этот период использует имеющиеся энергетические резервы с переходом на процессы неогликогенеза и получение энергии и глюкозы из белков и жиров.

Дальнейший ход событий с участием аутофагии наряду с переходом на «внутренне питание» характеризовался цикличностью, связанной, по всей видимости с метаболическими перестройками во время голодания [Кокосов А.Н., Осинин С.Г., 2007].

Разнонаправленные реакции аутофагии у мужчин и женщин в ответ на ограничение калорийности питания можно расценить как проявление собственной саморегуляции активности процесса по принципу обратной связи. Появились сообщения о том, что ограничение калорийности питания после эпизода активации аутофагии, через 6-24 часа сопровождается торможением этого процесса [Пупышев А.В., 2014; Yu L. et al., 2010]. По мнению отдельных авторов [Пупышев А.В., 2014] описанные реакции зависят от морфологии клетки и направлена на предотвращение клеточной гибели. Снижению аутофагии предшествует этап рефосфорилирования mTOR (Рисунок 5.1).

Можно предположить, что в начальном периоде голодания (3 суток) организм испытывает «голодный» стресс с торможением процесса аутофагии. Этот период совпадает с I-ой стадией «пищевого возбуждения» [Кокосов А.Н. Осинин С.Г., 2007].

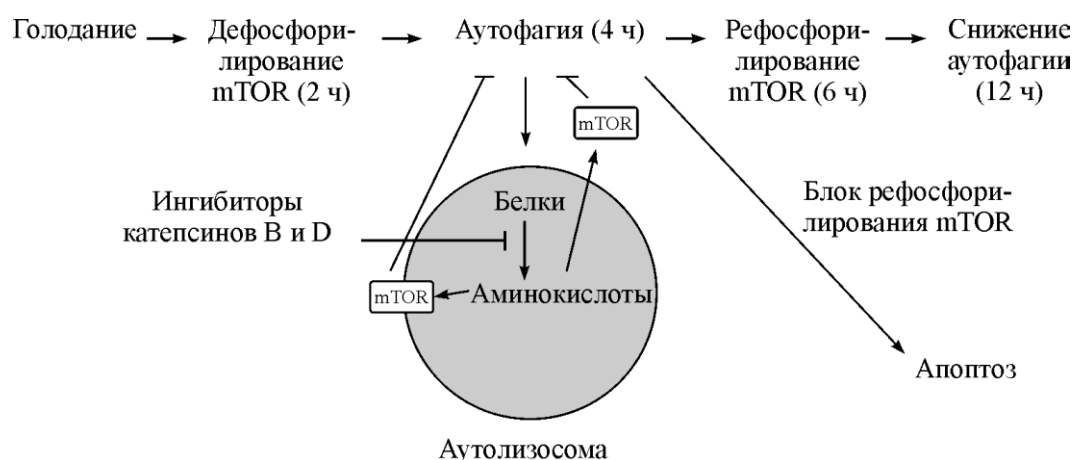


Рисунок 5.1 – Рисунок взят из статьи Пупышева А.В. (2014)

При отсутствии поступления калорий и для обеспечения энергией собственного организма процесс аутофагии активируется особенно на 4-7 сутки (стадия «нарастающего кетоацидоза» и остается повышенной к 12 суткам. Спустя это время (4-6 суток), что совпадает со временем прекращения голодания и переходом на гипокалорийное питание процесс аутофагии замедляется и даже становится менее интенсивным, чем до начала исследования. Если пациенты продолжали голодать, то аутофагия вновь активировалась (11-12 сутки) в большинстве случаев превосходя исходный уровень (III-стадия «компенсированного кетоацидоза») [Кокосов А.Н., Осинин С.Г., 2007].

Закономерности, выявляемые при анализе активности процесса аутофагии, в определенной мере соответствуют стадиям процесса голодания, описанных А.Н. Кокосовым и его коллегами [Кокосов А.Н. Осинин С.Г., 2007]. При этом надо признать, что полученные в день забора крови данные наиболее полно отражают активность аутофагии у пациентов проголодавших 11-12 дней [Тхакушинов И.А., Лысенков С.П., 2022].

Активация аутофагии после 4-6 суток голодания возможно связана с переходом в получении энергии с расщепления гликогена, глюконеогенеза за счет глюкогенных аминокислот и жира. В условиях дефицита углеводов «сгорание» жиров происходит неполноценно, что сопровождается появлением недоокисленных продуктов жирового обмена. Это может являться стимулом к активации аутофагии. Однако, продолжающееся накопление кетоновых тел, ацетона, ацетоуксусной кислоты, оксимасляной кислоты создают условия для формирования метаболического ацидоза, пик ацидоза («ацидотический криз») в большинстве случаев наступает на 6-9 сутки голодания, который, как видно из Рисунок 3.2.1, не активирует процесс аутофагии вплоть до 11-12 суток [Тхакушинов И.А., Лысенков С.П., 2022].

Функциональные физиологические и биохимические системы поддержания кислотно-основного равновесия: дыхательная, почечная, желудочно-кишечный тракт, кожа, буферные системы крови до определенных моментов компенсируют

метаболический ацидоз. Однако, при истощении функциональных резервов этих систем развивается ацидотический криз.

Наступление ацидотического криза, по всей вероятности, является мощным триггером к переходу на эндогенное питание. Снижение уровня кетоновых тел на 7-9 день, отмечаемое некоторыми авторами, предшествует отмеченному нами второму пику активности аутофагии на 11-12 сутки. К этому моменту (по данным литературы) активированная секреция в желудке прекращается, а начинается спонтанная секреция, которое сопровождается появлением в желудке и кишечнике белков, ферментов, жиров и углеводов, служащих субстратами для повторного метаболизма и всасывания. Если учесть, что аутофагия – это внутриклеточный процесс, то появление маркеров аутофагии в плазме крови могло запаздывать по времени от момента компенсации метаболического ацидоза.

В процессе поставки субстратов параллельно включаются клетки крови, в частности макрофаги и нейтрофилы, в которых отмечается аутолиз. С учетом очень тесного взаимодействия процесса аутофагии и апоптоза, активация аутофагии на 11-12 сутки выглядит объяснимо. Однако, следует отметить, что вектор изменения активности беклина-1 оказался разнонаправленным. Так, к примеру, из 76 обследованных, находящихся на голоде и гипокалорийной диете, у 48 человек концентрация беклина-1 повышалась (дельта беклина-1 положительная), а у 28 человек уменьшалась (дельта беклина-1 отрицательная) [Тхакушинов И.А., Лысенков С.П., 2022]. Следует добавить, что в условиях голодания формируется так называемый карбонильный стресс [Давыдов В.В., Божков А.И., 2014], характеризующейся появлением соединений, содержащих группу C=O: альдегиды, амиды, сложные эфиры. Указанные соединения способны активировать агрефагию [Зенков Н.К. и др., 2019] и аутофагию протеосом [Cohenh-Kaplan V. et al., 2016].

Таким образом, реакцию аутофагии на комплексную оздоровительную программу с полной пищевой депривацией в целом можно было оценить как положительную, т.е. с признаками ее активации. В течение наблюдения (12 дней) выявлялись 2 временных пика активации на 4-6 и на 11-12 сутки голодания. У пациентов, проголодавших 4-6 суток отмечены признаки сохранившейся

активности до конца наблюдения. Потерю жировой массы, которая как закономерность наблюдалась при голодании, следует отнести к независимому фактору по отношению к активности аутофагии. Более того, у 36,9% обследованных уровень беклина-1 снизился по отношению к исходному. В подтверждение к этому, мы не выявили достоверной связи между показателями дельты беклина-1 и дельты жировой массы ( $r = -0,06$ ;  $p < 0,05$ ) [Тхакушинов И.А., Лысенков С.П., 2022]. Напротив, выявлена отрицательная корреляционная связь у пожилых мужчин с жировой массой ( $r = -0,87$ ;  $p < 0,05$ ). Не исключено, что в периодичности активности аутофагии существенную роль играет гормон инсулин, концентрация которого может существенно меняться в процессе голодания. Известно [Arico S., et al., 2001; Meijer A. J., Codagno P., 2004], что инсулин способен ингибировать активность аутофагии.

Следует отметить, что у лиц, реагирующих на голод повышением активности аутофагии, выявлялась отрицательная корреляционная зависимость с индексом массы тела ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,05$ ). Другими словами, у лиц с более низкими значениями ИМТ активность аутофагии была более значима для организма в этот период.

Особенностью аутофагии у мужчин в процессе КОП, находящихся на гипокалорийной диете, является наличие у лиц зрелого возраста I-го периода и пожилого возраста корреляционных связей беклина-1 с содержанием общей и внеклеточной воды; для мужчин с ожирением особенностью является наличие достоверной прямой связи уровня беклина-1 и мышечной, тощей массы ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,05$ ), а также с содержанием общей воды ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,05$ ). Можно предположить, что оптимальный уровень аутофагии у лиц с ожирением поддерживается за счет аутофагии в мышечной массе. Из литературы известно, что митофагия в мышцах может вносить весомый вклад в этот процесс [Del Rosso A., et al., 2003; Namacher-Brady A., et al., 2016].

У мужчин зрелого возраста II-го периода выявляется отрицательная корреляционная связь с ХС ЛПВП и прямая корреляционная связь с уровнем триглицеридов. Этот факт можно объяснить тем, что для этого возрастного периода

характерно появление неблагоприятных факторов, способствующих увеличению уровня триглицеридов и снижению уровня ХС ЛПВП.

Гендерной особенностью реакции на КОП у мужчин является значительное повышение уровня беклина-1 ( $p < 0,01$ ) по сравнению с исходным уровнем ( $48,8 \pm 9,2$  пг/мл и  $101,9 \pm 21,2$  пг/мл;  $p < 0,01$ ).

Возрастных особенностей в изменениях липидного спектра выявлено не было, а ранее выявленные корреляционные связи после проведения КОП уже не обнаруживались.

Однако, в весовой категории мужчин с ожирением установлены положительные корреляционные связи между ХС ЛПВП и беклином-1 ( $p < 0,01$ ) и отрицательные с ХС ЛПНП, ОХ и беклином-1. Следовательно, активность аутофагии после КОП у мужчин с ожирением в большей степени определяется массой тела, массой жира и в меньшей степени возрастом. Направленность изменений в липидном спектре следует признать физиологически благоприятной, так как нормализуются компоненты, отвечающие за атерогенность липидов. С этих позиций целесообразно рекомендовать мужчинам с избыточной массой и ожирением проведение курсов КОП.

Полученные данные свидетельствуют о том, что весовая категория пациента в меньшей мере играет роль в активации аутофагии при ограничении калорийности питания у мужчин. Наиболее значимым фактором, сказывающемся на активности аутофагии, является возраст. В частности, это подтверждается наличием прямых корреляционных связей у обследованных мужчин зрелого возраста I-го периода с мышечной, тощей массой и общим содержанием воды, у пожилых - наличием отрицательной связи с содержанием общего жира. Фактором, влияющим на изменения липидного спектра крови, после КОП, также оказался возраст: в зрелом возрасте I-го периода выявлена отрицательная корреляционная связь между дельтой - беклина-1 и липопротеидами высокой плотности, а в пожилом возрасте отрицательные связи с ХС ЛПНП, общим холестерином и положительные связи с ХС ЛПВП.



В данном исследовании был подтвержден факт снижения активности аутофагии по мере увеличения возраста человека. Ранее полученные данные касались лишь лабораторных животных, либо отдельных культур клеток [Luevano-Martinez L.A. et al., 2017].

Ограничение калорийности питания, как ведущего фактора КОП, является пусковым моментом для активации внутренних сигнальных путей изменения метаболизма. Одним из таких регуляторов является белок-фермент сиртуин-1 (SIRT-1). В экспериментальных работах было показано, что ограничение калорийности питания способствует долголетию и защите клетки от гипоксии с помощью сиртуин-1-зависимого процесса аутофагии [Morselli E. et al., 2010;]. С этих позиций SIRT1 выступает как энергетический сенсор клеток. Сиртуин-1 является представителем деацетилаз, способных при их сверхэкспрессии увеличивать продолжительность жизни отдельных представителей млекопитающих [Yao Z.Q., et al., 2018]. Через процесс ацетилирования сиртуины способны регулировать апоптоз, глюконеогенез, окисление жирных кислот, чувствительность к инсулину, дифференцировке клеток жировой ткани [Li B.B. et al., 2019].

В качестве триггера экспрессии сиртуина-1 и сиртуина-3 может выступать дефицит энергетических субстратов. В своем обзоре [Rusakova E.A. et al., 2018] показала, что ген SIRT1 способствует процессу глюконеогенеза в печени, окислению жирных кислот в мышцах и мобилизации жира в жировой ткани, что дает право считать этот ген важным регулятором липидного обмена [Horigo Y., et al., 2011].

В ряде работ действительно подтверждено, что SIRT1 активирует процесс глюконеогенеза в печени [Rodgers J.T. et al., 2008], окисление жирных кислот в мышцах [Gerhart-Hines Z. et al., 2007] и мобилизацию жира в жировой ткани [Picard F. et al., 2004].

В эксперименте в условиях гипергликемии SIRT1 через реакцию активации АМПК (АМФ-активируемая протеинкиназа) предотвращает накопление липидов в печени [Нои Х. et al., 2008]. SIRT1 может регулировать обмен липидов в печени

через деацетилирование SREBPs – белков, регулирующих липогенез и синтез холестерина [Nie Y. et al., 2009]. Активация SIRT1 ингибирует экспрессию гена SREBPs и уменьшает признаки стеатоза у мышей, находящихся на ограниченном рационе питания, и у мышей с генетическим ожирением [Walker A.K. et al., 2010; Ponugoti B., et al., 2010]. В плане исследуемой авторами проблемы важно отметить, что нарушенная функция SIRT1 в жировой ткани у генетически жирных мышей (ADIPO-H363Y) восстанавливалась при ограничении калорийности питания [Xi C. et al., 2015].

Деацетилирование Beclin-1 под воздействием SIRT1, как это следует из литературных данных [Sun T. et al., 2015; Qiu G. et al., 2016], сопровождается увеличением количества аутофагосом. Для их построения требуются компоненты, включая холестерин, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП. Возможно, что эта регуляция липидного обмена осуществляется через сиртуин-1. Содружественная реакция SIRT1 и Beclin-1 у пожилых мужчин, по-видимому, проявлялась наиболее физиологично, а именно, в тенденции к снижению ХС ЛПНП и повышению ХС ЛПВП. Однако этот вопрос требует специального изучения.

Корреляционный анализ выявил наличие прямой корреляционной связи ( $r=0,63$ ;  $p < 0,05$ ) в группе женщин зрелого возраста I-го периода между уровнем беклина-1 и весом, индексом массы тела. В молодом возрасте, когда функциональные системы работают в нормальном режиме, наличие указанной связи может свидетельствовать о важнейшей функции аутофагии в поддержании физиологических параметров массы тела. Отсутствие корреляционных связей в других возрастных группах может свидетельствовать о разбалансировки процесса аутофагии с другими физиологическими процессами: липидным обменом, водном обменном процессом, регуляции массы тела и др.

Особенностью связей с общеклиническими анализами крови явилось наличие отрицательной корреляционной связи между уровнем беклина-1 и содержанием гемоглобина в группе зрелого возраста II-го периода. Такую взаимосвязь можно объяснить у женщин зрелого возраста II-го периода с сохранившимися овуляторными циклами. Последние, несомненно, циклично

связаны с кровопотерей и активацией аутофагии и апоптоза в эндометрии матки [Choi J.Y., et al., 2014]. Особенно тесные корреляционные связи ( $p < 0,01$ ) выявлялись у женщин с нормальным весом, в то время как у женщин с ожирением выявлены связи только с количеством эозинофилов ( $r=0,58$ ;  $p < 0,01$ ).

В зрелом возрасте I-го периода выявлена единственная отрицательная корреляционная связь между беклином-1 и ХС ЛПВП. Возможно, что активация аутофагии требует для построения фагосом именно эту фракцию липопротеинов. Выявленная связь наблюдалась у женщин, у которых концентрация ХС ЛПВП лежала в пределах 1,14 ммоль/л – 2,47 ммоль/л, то есть в пределах физиологической нормы. В большей степени эта закономерность была связана с возрастом, и в меньшей степени с массой тела.

В своем обзоре Rusakova E. et al., [Rusakova E.A. et al., 2018] показала, что ген SIRT1 способствует процессу глюконеогенеза в печени, окислению жирных кислот в мышцах и мобилизации жира в жировой ткани, что дает право считать этот ген важным регулятором липидного обмена [Horigo Y. et al., 2011].

В ряде работ действительно подтверждено, что SIRT1 активирует процесс глюконеогенеза в печени [Rodgers J.T. et al., 2008], окисление жирных кислот в мышцах [Gerhart-Hines Z. et al., 2007] и мобилизацию жира в жировой ткани [Picard F. et al., 2004]. В плане исследуемой авторами проблемы важно отметить, что нарушенная функция SIRT1 в жировой ткани у генетически жирных мышей (ADIPO-H363Y) восстанавливалась при ограничении калорийности питания [Xi C. et al., 2015].

У млекопитающих одним из важнейших регуляторов внутриклеточных процессов в условиях измененного энергетического обеспечения является протеинкиназа mTORC1 [Laplante M., Sabatini D.M., 2012], которая является мишенью молекулы макролида рапамицина. Указанная киназа является сенсором, реагирующим на энергетическое обеспечение, уровень аминокислот, кислорода, степень оксидационного стресса и аутофагию. В частности, mTORC1 ингибирует аутофагию, регулируя таким образом анаболические и катаболические процессы в

клетке [Ganley I.G., et al., 2009; Hosokawa N., et al., 2009], а снижение поступление энергетических субстратов в клетку ингибирует активность mTORC1.

Следовательно, особенностью аутофагии у женщин зрелого возраста I-го периода является наличие функциональных связей между интенсивностью процесса аутофагии и поддержанием концентрации ХС ЛПВП. Возможно, что эта связь весьма опосредована, но она существует. Показать конкретные механизмы этих взаимодействий довольно сложно из-за скудности публикаций по данному разделу, но такие исследования, несомненно, представят интерес в силу важности их для практики.

Влияние КОП и гипокалорийного питания на реакцию беклина-1 оценивалось в первую очередь с учетом возрастных особенностей. Было установлено, что минимальной реакцией на КОП отмечались женщины пожилого возраста. В этой группе концентрация беклина-1 оказалась достоверно ниже, чем у женщин зрелого возраста I-го периода ( $p < 0,02$ ) и ниже средних показателей (не достоверно) у женщин зрелого возраста II-го периода ( $p < 0,1$ ). Эти различия нивелировались у женщин с нормальным весом и ожирением. Данный факт позволяет говорить о доминирующем влиянии на аутофагию фактора возраста в условиях ограничения питания. Однако, в зрелом возрасте II-го периода у женщин после КОП выявлены прямые корреляционные связи с массой тела ( $r=0,32$ ;  $p < 0,05$ ), а у лиц с нормальным весом с содержанием жира ( $r=0,38$ ;  $p < 0,05$ ). В этом вопросе ясности пока нет. В наших наблюдениях была выявлена отрицательная корреляционная связь у пожилых мужчин беклина-1 с жировой массой. Другими словами-чем, больше остаточное количество жировой массы после КОП, тем ниже активность аутофагии у пожилых мужчин. Следует отметить, что в литературе описаны аналогичные реакции в экспериментах на животных с ожирением. В частности, было показано, что у таких животных имеет место высокая активность mTORC1 [Khamzina L., et al., 2005], которая способна ингибировать аутофагию.

Что касается липидного спектра, то его реакцию удалось выявить при проведении корреляционного анализа. В частности, у лиц зрелого возраста II-го периода и во всей группе, а также у женщин с нормальным весом выявлены прямые

корреляционные связи между уровнем беклина-1 и ХС ЛПВП, что следует рассматривать как благоприятный физиологический эффект.

Можно предположить, что у женщин зрелого возраста II-го периода и с нормальным весом между активностью аутофагии и уровнем ХС ЛПВП и жира устанавливаются определенные соотношения, поддерживающие нормальное содержание жира и ХС ЛПВП. Наличие прямых корреляционных связей беклина-1 с жировой массой позволяет предполагать, что одним из основных источников беклина-1 может быть жировая масса. Это предположение подтверждается имеющейся публикацией [Picard F., et al., 2004].

Оценивая активность беклина-1 по показателю, дельта-беклина-1, можно констатировать, что наиболее значительная реакция наблюдается в пожилом возрасте в сравнении со зрелым возрастом II-го периода ( $p < 0,02$ ). При этом фиксировались довольно низкие исходные показатели уровня беклина-1.

Важно отметить, что степень активации процесса аутофагии у женщин находилась в прямой корреляционной связи с уровнем холестерина ( $r=0,31$ ;  $p < 0,05$ ), а в группе зрелого возраста II-го периода – отрицательная связь с ХС ЛПВП ( $r=-0,35$ ;  $p < 0,05$ ). Более того, у женщин пожилого возраста активация сопровождалась ростом ХС ЛПНП ( $r=0,59$ ;  $p < 0,05$ ) и общего холестерина ( $r=0,74$ ;  $p < 0,01$ ). Аналогичные взаимосвязи установлены у женщин с нормальным весом по отношению к триглицеридам ( $r=0,54$ ;  $p < 0,05$ ) и общему холестерину ( $r=0,53$ ;  $p < 0,05$ ).

Указанные изменения можно трактовать с двух позиций: во-первых, эти реакции стали следствием активации аутофагии; с другой стороны, активация аутофагии могла быть следствием повышения уровня холестерина, ХС ЛПНП и триглицеридов.

Следует отметить, что реакция на КОП у женщин проявлялась разнонаправленно: у 30 женщин активность аутофагии повышалась, а у 18 – снижалась. Однако, используя комплекс морфофизиологических показателей трудно было предсказать направленность этих реакций. У женщин и с положительной дельтой беклина-1 и с отрицательной дельтой достоверных

различий по морфофизиологическим параметрам выявить практически не удалось. Лишь по показателю содержания внутриклеточной воды и ее степени потерь имелись различия ( $p < 0,05$ ), характеризующиеся большим содержанием воды и ее потерь у лиц с отрицательной дельтой. При этом исходные показатели беклина-1 достоверно не различались.

Сравнительный анализ активности аутофагии у мужчин и женщин без учета возраста показал значительную и достоверную активность аутофагии у женщин ( $p < 0,03$ ) в исходном состоянии.

После КОП у женщин моложе 60 лет концентрация беклина-1 оказалась достоверно ( $p < 0,048$ ) ниже, чем у мужчин такой же возрастной категории.

Сравнение показателей концентрации у мужчин и женщин в каждой возрастной группе, а также по весовым категориям выявило наиболее низкие показатели уровня беклина-1 у пожилых женщин, чем у молодых женщин ( $p < 0,02$ ). Однако, оценивая степень активации аутофагии после КОП, оказалось, что она наиболее высока именно у пожилых. Ранее было показано [Del Roso, A. et al., 2003; Donati, A. et al., 2001], что у грызунов и в изолированных клетках печени активность аутофагии снижается по мере старения. В наших исследованиях этот факт установлен у человека. Это подтверждает тезис о том, что одним из ведущих факторов активности аутофагии является возраст (а затем пол).

Сравнение по гендерному принципу показали в исходном состоянии наличие корреляционных связей только у женщин зрелого возраста I-го периода между весом и уровнем беклина-1 и у пожилых женщин между весом и уровнем беклина-1. Аналогичных связей у мужчин не выявлялось. Однако, у мужчин с ожирением выявлялась достоверная связь ( $r=0,62$ ;  $p < 0,05$ ) с мышечной и тощей массой ( $r=0,62$ ;  $p < 0,05$ ) и общим количеством воды ( $r=0,62$ ;  $p < 0,05$ ). Это можно считать основным отличием корреляционных связей у мужчин.

При сопоставлении выявленных связей с общеклиническим анализом крови основным отличием у женщин является наличие отрицательной корреляционной связи ( $r=-0,25$ ;  $p < 0,05$ ) с уровнем гемоглобина, которые достоверно сохранялись и в зрелом возрасте II-го периода. Эти же связи (дополнительно и с количеством

эритроцитов) подтвердились у женщин, имеющих нормальный вес (с гемоглобином  $r=-0,55$ ;  $p < 0,01$ ; с эритроцитами  $r=-0,68$ ;  $p < 0,01$ ). У мужчин эти закономерности не определялись.

Отличительной чертой связей с липидным спектром в исходном состоянии является наличие прямой корреляционной связи между уровнем беклина-1 и триглицеридами ( $r=0,57$ ;  $p < 0,05$ ) у мужчин с ожирением. У женщин аналогичных связей не выявлялось.

Ограничение калорийности питания показало наличие корреляционных связей во всей группе мужчин, а также в средне-пожилom возрасте между весом, ИМТ и жировой массой ( $p < 0,01$ ). Причем, эта взаимосвязь отмечена у женщин с нормальным весом ( $r=0,38$ ;  $p < 0,05$ ) и у мужчин с ожирением ( $r=0,82$ ;  $p < 0,05$ ).

Из этого фрагмента можно заключить, что еще одним фактором, определяющим уровень беклина-1 является масса тела, конкретно - жировая масса. При дефиците поступающих калорий организм, используя запасы жира, одновременно активизируется процесс аутофагии, направленный также на получение дополнительной энергии.

В генезе активации аутофагии большую роль играют адипоциты (но не другие компоненты жировой ткани), что подтверждалось более высокой экспрессией мРНК генов Atg6, LC3A и LC3B [J. Kovsan et al., 2011]. В исследовании J. Kovsan et al. (2011) наиболее значимая корреляция выявлялась между степенью висцерального ожирения у людей, диаметром клеток адипоцитов и активностью аутофагии. Возраст, пол, резистентность к инсулину, уровень iL-6 оказались менее значимыми факторами [J. Kovsan et al., 2011].

У лиц с ожирением имеет место экспрессия мРНК генов-маркеров аутофагии человека (Atg5, LC3B, LC3A). В частности, был установлен повышенный уровень белков Atg5, LC3B, LC3A в висцеральном жире по сравнению с подкожным [J. Kovsan et al., 2011].

У людей, не страдающих ожирением, эта закономерность сохранялась, на более низких значениях. Кроме того, в исследовании было показано, что

активность аутофагии определяется именно адипоцитами, а не сосудисто-стромальным компонентом жировой ткани.

Особенно тесная корреляционная связь отмечалась между уровнем мРНК Atg5 как в висцеральном жире, так и в подкожном. Важным выводом данного исследования является то, что активация генов аутофагии и увеличение белков-маркеров (p62) не характеризует завершение аутофагического потока. Это означает, что выводы об активации процесса аутофагии несут долю условности.

Однако, как показали наши исследования, возраст и пол являются одними из ведущих факторов, определяющих исходный уровень аутофагии и его реакцию на ограничение калорийности питания. Объем жировой ткани играл роль в аутофагии только у лиц определенного возраста и пола.

Особенностью связей после КОП с липидным спектром у женщин является наличие их во всей исследуемой группе с ХС ЛПВП ( $r=0,34$ ;  $p < 0,05$ ) и в зрелом возрасте II-го периода ( $r=0,53$ ;  $p < 0,05$ ), а также у женщин с нормальным весом ( $r=0,61$ ;  $p < 0,01$ ).

Аналогичные корреляционные связи особенно с ХС ЛПВП выявлялись и у мужчин, что можно считать общей закономерностью при ограничении калорийности питания.

Степень активности аутофагии, которую оценивали по показателю дельта-беклина-1, оказалась в прямой корреляционной связи у мужчин зрелого возраста I-го периода и у женщин зрелого возраста II-го периода с мышечной, тощей массой и содержанием воды. Эта закономерность оказалась общей для мужчин и женщин, но относящихся к разным возрастным группам.

Гендерные различия пожилого возраста заключались в наличие отрицательных корреляционных связей у мужчин с жировой массой ( $r=-0,87$ ;  $p < 0,05$ ), а у женщин с весом ( $r=-0,65$ ;  $p < 0,05$ ) и ИМТ ( $r=-0,61$ ;  $p < 0,05$ ).

Общими закономерностями у мужчин и женщин относительно липидного спектра является наличие положительной связи у мужчин зрелого возраста I-го периода и пожилых женщин между дельтой-беклина и ХС ЛПНП и общим холестерином.



Отличительной чертой у пожилых мужчин является наличие отрицательных корреляционных связей с общим холестерином ( $r=-0,98$ ;  $p < 0,01$ ); ХС ЛПНП ( $r=-0,99$ ;  $p < 0,05$ ) и наличие прямой связи с ХС ЛПВП ( $r=0,94$ ;  $p < 0,01$ ). В пожилом возрасте у мужчин ответ аутофагии на ограничение поступления калорий является наиболее физиологичным: снижением атерогенных соединений и повышением противоатерогенных.

Неоднозначные изменения в липидном спектре у мужчин и женщин разного возраста и массы тела при различных уровнях активности аутофагии могли отражать различные этапы регуляции и метаболизма липидов в организме. Стало известно, что аутофагия активно регулирует липидный обмен, включая его ключевые составляющие [Singh R., et al., 2009; Weidberg H., Shvets E., Elazar Z., 2009].

Еще одной отличительной особенностью у женщин с нормальным весом явилось наличие положительных корреляционных связей между степенью активации аутофагии, которую оценивали по показателю дельта-беклина-1, с общим холестерином ( $r=0,53$ ;  $p < 0,05$ ) и триглицеридами ( $r=0,54$ ;  $p < 0,05$ ). У мужчин подобных связей не выявлялось. Учитывая, что указанные связи зафиксированы у женщин нормальной весовой категории, по-видимому, такую взаимосвязь можно признать физиологически обусловленной. По всей вероятности, большое значение играет наличие овуляторного цикла, детородная функция и, соответственно, синтез стероидных гормонов, обеспечивающих эти функции. Возможно это объяснение можно применить и для женщин всей группы, у которых выявлена положительная корреляционная связь ( $r=0,31$ ;  $p < 0,05$ ) активности аутофагии и уровнем общего холестерина.

Несомненно, представляло интерес проанализировать реакцию аутофагии у пациентов с сахарным диабетом типа 2. Полученные результаты свидетельствуют о том, что базовый уровень аутофагии у пациентов с избыточной массой тела и СД-2 типа характеризуется значительной вариабельностью, а в ряде случаев повышенным уровнем беклина-1 по сравнению с показателями пациентов, не имеющих ожирения и признаков сахарного диабета. Уровень беклина-1 у

пациентов с СД-2 типа был схожим с уровнем пациентов, имеющих ожирение в сочетании с СД-2 типа.

Отсутствие корреляционных связей между уровнем беклина-1 и компонентами состава говорит об участии комплекса факторов в поддержании базового уровня аутофагии. Среди таких возможных факторов можно назвать эндотоксикоз, обусловленный различными механизмами. Наличие эндотоксикоза у пациентов СД 2 типа подтверждается наличием корреляционной связи между уровнем беклина-1 и ЛИИ. Причинами появления эндотоксикоза является активация провоспалительного звена иммунной системы [Dewibar B et al, 2020], глюкозо- и липотоксичность [Neville et al, 2016; Литвиненко В.М., 2020]. Кроме того, инсулинрезистентность влечет за собой дефицит синтеза макроэргических соединений и развитие тканевой гипоксии. Вероятно, по этой причине не было зарегистрирована активность аутофагии на применение КОП. В отличие от этого в группе без сопутствующих заболеваний был получен явный ответ индуцированной аутофагии на КОП. Интересен тот факт, что у половины пациентов с избыточной массой тела и СД-2 уровень беклина-1 после КОП даже снизился. Причиной такого снижения может быть дефицит поступающих калорий, который заведомо используется в оздоравливающем комплексе. При ограничительной диете или голодании может включаться механизм, отличный от аутофагии-SINGD (stress-induced nascent granule degradation). В результате активации этого механизма происходит деградация гранул инсулина, а продукты этой деградации вызывают угнетение аутофагии [Goginashvili A., et al, 2015]. Однако, в противоположность этому аутофагия является механизмом снижения активных форм кислорода (АФК) в эндокриноцитах [Muralidharan S., et al, 2021], а низкие уровни АФК способствуют пролиферации клеток эндокринного аппарата [Zeng C., et al, 2017].

Второй механизм угнетения может быть связан с восстановлением чувствительности клеток к инсулину и в адекватной доставке глюкозы внутрь клетки. Если базовая активность аутофагии была обусловлена дефицитом энергии и направлена на ее компенсацию, то после восстановления процесса поступления глюкозы в клетку уровень базовой активности у части пациентов снижается.

Выбранный методический подход в данном исследовании не позволяет говорить о том, снижаются ли этот процесс во всех клетках или только в инсулинзависимых, однако он подтверждает неоднозначность реакции организма на оздоровительный комплекс. На основании имеющихся данных литературы можно предполагать, что активация аутофагии в условиях сформированной глюкозо- и липотоксичности должна оказывать положительный эффект на клетки, включая инсулиноциты.

Появление положительных корреляционных связей между уровнем беклина-1 и морфофизиологическими параметрами состава тела (ИМТ, весом, мышечной, тощей и жировой массы) после КОП может косвенно свидетельствовать о восстановлении функциональных связей между исследуемыми параметрами. Наличие положительных связей позволяет предположить, что источником поддержания уровня активности аутофагии после КОП могут быть мышечная, тощая и жировая масса. Используя показатель «дельта-беклин-1» была выявлена прямая связь этого показателя с жировой массой. Это позволяет говорить о том, что доминирующим источником маркера беклин-1 у лиц СД-2 является жировая ткань.

Базовый уровень беклина-1 у лиц СД-2 положительно коррелировал с ХС ЛПНП и ОХ, что можно расценить как неблагоприятный вариант подобной взаимосвязи. Возможно, что рост базовой активности аутофагии является следствием повышения общего холестерина и атерогенной фракции ХС ЛПНП. По-видимому, можно считать положительным эффектом исчезновение указанных связей после КОП. В отличие от описанной картины у пациентов с ИМТ <30 кг/м<sup>2</sup> и не имеющих СД-2 типа реакция на КОП оказалась выраженной, с достоверным увеличением концентрации беклина-1.

Таким образом, проведенное исследование показало наличие высокой степени варьирования концентрацией маркера аутофагии – беклина-1 как у мужчин, так и у женщин в исходном состоянии.

При этом были установлены определенные взаимосвязи между концентрацией беклина-1 и морфофизиологическими, биохимическими параметрами, и такими факторами как возраст, вес, гендерная принадлежность. Использование показателя дельта-беклина-1 позволила более объективно оценить

степень активации аутофагии на ограничение калорийности питания. Среди фактов, полученных с помощью такого подхода, следует обратить внимание на разнонаправленность реакции аутофагии как в сторону повышения, так и в сторону снижения активности в условиях КОП.

Регуляция аутофагии физиотерапевтическими методами может стать компонентом комплексных профилактических, а возможно и лечебных мероприятий социально значимых заболеваний. С учетом появившихся исследований [Chiok K., et al., 2022] о роли аутофагии в противовирусной защите дальнейшие исследования механизмов регуляции обещают быть интересными и актуальными.

Общие закономерности аутофагии у мужчин и женщин и особенности в различных возрастных и весовых категориях, а также сопутствующего сахарного диабета 2-го типа позволяют сделать ряд выводов и предложить рекомендации, применение которых возможно в оздоровительной практике.

## ВЫВОДЫ

1. Факторами, определяющими базовую активность аутофагии пациентов являются возраст, масса тела и гендерная принадлежность; с возрастом у лиц после 60-ти лет активность снижается, а у лиц с ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup> и зрелом возрасте активность достоверно превосходит активность у лиц с ИМТ менее 30кг/м<sup>2</sup> ( $p < 0,007$ ) в пожилом возрасте ( $p < 0,012$ ), при этом у женщин она исходно выше, чем у мужчин ( $p < 0,037$ ) и отрицательно коррелирует с концентрацией гемоглобина; уровень активности у лиц с ИМТ менее 30кг/м<sup>2</sup> положительно коррелирует с мышечной и тощей массой ( $r=0,39$ ;  $p < 0,05$ ), содержанием общей и внеклеточной воды ( $r=0,39$ ;  $p < 0,05$ ), а у лиц с ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup> такие взаимосвязи не выявляются.

2. Комплексная оздоровительная программа с частичным ограничением калорийности питания у мужчин и женщин сопровождается двумя типами реакций аутофагии с повышением активности (62,3%) и понижением (37,7 %); у мужчин зрелого и пожилого возраста реакция на КОП проявляется более выраженным ростом концентрации маркера аутофагии по сравнению с женщинами, а соматоморфологические признаки играют роль только в отдельных весовых и возрастных категориях: у женщин концентрация беклина-1 коррелирует с содержанием жира ( $r=0,38$ ;  $p < 0,05$ ) в группе с нормальным весом, а у мужчин - в группе с ожирением ( $r=0,73$ ;  $p < 0,01$ ); у мужчин зрелого возраста I-го периода и у женщин зрелого возраста II-го периода активность аутофагии положительно коррелирует с тощей, мышечной массой и общим содержанием воды, а у пожилых мужчин отрицательно коррелирует с жировой массой.

3. Реакция аутофагии в ответ на оздоровительную программу и полную пищевую депривацию продолжительностью от 1 до 12 суток с последующим переходом на гипокалорийное питание характеризуется волнообразным течением процесса аутофагии с повышением активности у лиц, находившихся на полной пищевой депривации 4-6 и 11-12 суток, и снижением у лиц, находившихся на

пищевой депривации 1 сутки и 7-10 суток; выявленная фазность, вероятно, связана с метаболическими перестройками в организме в процессе КОП.

4. Ограничение калорийности питания менее 800 ккал в сутки в комплексе с оздоровительными мероприятиями сопровождается благоприятными физиологическими реакциями и изменениями в липидном спектре, характеризующиеся активацией аутофагии у большинства обследованных и повышением концентрации ХС ЛПВП ( $r= 0,66$ ;  $p <0,01$ ), а при потреблении более 800 и менее 1200 ккал в сутки - снижением концентрации триглицеридов ( $r=-0,34$ ;  $p <0,05$ ).

5. Особенностью базовой аутофагии у пациентов с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2-го типа является ее повышенная активность и слабо выраженная и разнонаправленная реакция на КОП; у лиц без сопутствующей патологии имеет место более низкая базовая активность, но выраженная реакция на проведение КОП.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В оценке базовой активности аутофагии у здоровых лиц разного возраста, пола и массы рекомендованы использовать полученные в работе данные о концентрации беклина-1 в качестве нормативных показателей.

2. Для получения эффекта активации аутофагии целесообразно ограничивать продолжительность комплекса восстановительной терапии и полной пищевой депривации в амбулаторных условиях до 4-5 суток, а в стационарных - до 11-12 суток.

3. С целью активации аутофагии и коррекции уровня ЛПВП и общего холестерина у женщин зрелого возраста можно рекомендовать комплекс оздоровительных мероприятий и гипокалорийную диету с суточной калорийности 800-1200 ккал/сутки.

4. В лабораторной практике для оценки степени активации процесса аутофагии в условиях воздействия физиологических оздоравливающих факторов рекомендовано использовать показатель «дельта-беклин-1».

5. Для лиц с ИМТ от 25 до 30 кг/м<sup>2</sup>, рекомендуется диета с калорийностью питания от 800 до 1200 ккал 1 раз в год, в случае не удержания веса - 2 раза в год (каждые 6 месяцев), лицам с ИМТ от 30 до 40 кг/м<sup>2</sup> – полная пищевая депривация и лицам с ИМТ выше 40 кг/м<sup>2</sup> рекомендуется диета до 800 ккал/сутки 3 раза в год с периодичностью 1 раз в 4 месяца.

6. Лицам с избыточной массой тела и ожирением, страдающим сахарным диабетом 2-го типа, рекомендовано применение комплексной оздоровительной программы в сочетании с ограничением калорийности питания от 800 до 1200 ккал/сутки продолжительностью 12 дней, 2 раза в год при ИМТ от 25 до 30 кг/м<sup>2</sup> и 3 раза в год с ИМТ от 30 до 40 кг/м<sup>2</sup> с учетом тяжести заболевания и сопутствующей патологии.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение возможности регуляции аутофагии с помощью различных комплексных оздоравливающих и диетических программ у лиц различной весовой категории, возраста, гендерной принадлежности и сопутствующей патологией. Перспективным представляются исследования по изучению влияния отдельных физиологических факторов (физическая нагрузка, питьевой режим, очистительные процедуры и др.) на активность аутофагии. Кроме того, представляет большой интерес изучение активности аутофагии в сопоставлении с изменением функциональных и клинико-биохимических показателей гомеостаза организма человека. Важным элементом в этих исследованиях явится установление молекулярных механизмов регуляции аутофагии у человека. При этом планируется установить не только положительные стороны активации аутофагии, но и возможные отрицательные эффекты.

Полученные данные позволят предложить варианты регуляции активности аутофагии с помощью физиотерапевтических факторов, что будет иметь важное практическое значение в восстановительной медицине.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айвазян Т. А. Здоровье здорового человека: научные основы организации здравоохранения, восстановительной и экологической медицины / Айвазян Т. А., Александрова И. Э., Ануфриева Е. В. [и др.]. – 3-е издание, переработанное и дополненное. – Москва: Международный Университет Восстановительной Медицины, 2016. – 624 с. – Текст: непосредственный.
2. Акопян Л. Рефлекторно-сегментарный массаж. Соединительнотканый массаж: учебное пособие / Акопян Л., Павлузина Н., Яшина Т. – Кисловодск, 2021. – 320 с. – Текст: непосредственный.
3. Алташина М. В. Интервальное голодание: эндокринные аспекты / Алташина М. В., Иванникова Е. В., Трошина Е. А. – Текст: непосредственный // Терапевтический архив. – 2022. – № 94 (10). – С. 1179-1184.
4. Аметов А. С. Сахарный диабет 2-го типа. Проблемы и решения. Т. 1: учебное пособие / Аметов А. С. – 3-е издание, переработанное и дополненное. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 352 с. – Текст: непосредственный.
5. Байбеков И. М. Структурные основы «универсальности» эффекта лазеротерапии при патологических процессах / Байбеков И. М., Бутаев А. Х., Рахманов Д. Х. – Текст: непосредственный // Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23, № S3. – 49 с.
6. Болтабаев М.Р. Эффект лазеротерапии на динамику изменений показателей эндогенной интоксикации и активности фагоцитарного звена системы иммунитета в период восстановления у высококвалифицированных баскетболисток / Болтабаев М. Р., Сафарова Д. Д., Денисова У. Ж. – Текст: непосредственный // Инновационные технологии спортивной медицины и реабилитологии. – 2021. – С. 41-47.
7. Гусинский А. В. Прибор биорезонансной терапии / Гусинский А. В., Клименко П. Д., Баранов В. В., Хорошко В. В. – Текст: непосредственный // Доклады Белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники. – 2018. – № 7 (117). – С. 151-154.

8. Давыдов В. В. Карбонильный стресс как неспецифический фактор патогенеза (обзор литературы и собственных исследований) / Давыдов В. В., Божков А. И. – Текст: непосредственный // НАМН Украины. – 2014. - № 1 (20). – С. 25-34.
9. Даутов Ю. Ю. Выявление артериальной гипертонии и новые аспекты коррекции ранних форм гипертонической болезни: автореф. дис. ... на соиск. уч. степ. канд. мед. наук / Даутов Ю. Ю. – Краснодар, 1994. – 18 с. – Текст: непосредственный.
10. Денисова У. Ж. Аспекты спортивной медицины: эффект лазеротерапии / Денисова У. Ж. – Текст: непосредственный // Фан-Спортга. – 2019. – № 3. – С. 46-49.
11. Джиева А.С. Биорезонансная терапия в восстановительном лечении пациентов старших возрастных групп с систолической артериальной гипертензией / Джиева А. С., Болатчиева Л. Х., Гусов Р. М. [и др.] // Курортная медицина. – 2022. – № 1. – С. 36-41.
12. Дракон А. К., Корчажкина Н. Б., Шелудченко В. М. Опыт применения расширенного комплекса офтальмонейростимуляции у пациентов с неэкссудативной атрофической (географической) формой возрастной макулярной дегенерации / Дракон А. К., Корчажкина Н. Б., Шелудченко В. М. – Текст: непосредственный // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2022. – Т. 21 (2). – С. 85-90.
13. Епифанов В. А. Массаж. Атлас-справочник: диагностика, лечение, профилактика / Епифанов В.А. Епифанов А.В., Глазкова И. И. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 432 с. – Текст: непосредственный.
14. Еремушкин Е. А. Медицинский массаж: базовый курс. Классическая техника массажа: учебное пособие / Еремушкин Е. А. Суханова М. Е. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 200 с. – Текст: непосредственный.
15. Зенков Н.К. Аутофагия как механизм защиты при окислительном стрессе / Зенков Н. К., А. В. Чечушков, П. М. Кожин [и др.]. – Текст: непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 195-214.

16. Илларионов В. Е. Теория и практика лазерной терапии: учебное руководство / Илларионов В. Е. – Москва: Либроком, 2017. – 150 с. – Текст: непосредственный.
17. Каладзе Н. Н. Биорезонансная терапия в комплексном лечении хронического катарального гингивита. – Текст: непосредственный // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2020. – № 1. – С. 75.
18. Кирьянов В. В. Биорезонансная терапия в активации резервных функций организма у больных гипотиреозом / Кирьянова В. В., Ворохобина Н. В., Махрамов З. Х., Турсунов Р. А. – Текст: непосредственный // Вестник академии медицинских наук Таджикистана. – 2018. – № 4 (28). – С. 426-436.
19. Кирьянов В. В. Биорезонансная терапия в активации резервных функций организма у больных сахарным диабетом 2-го типа / Кирьянова В. В., Ворохобина Н. В., Махрамов З. Х., Турсунов Р. А. – Текст: непосредственный // Здравоохранение Таджикистана. – 2019. – № 2. – С. 38-44.
20. Кокосов А. Н. Разгрузочно-диетическая терапия: руководство для врачей / Кокосов А. Н., Осинин С. Г. Санкт-Петербург: СпецЛит., 2007. – 320 с. – Текст: непосредственный.
21. Корчажкина Н. Б. Анальгезия методом лазерофореза фитокомплекса при хроническом болевом синдроме у пациентов с дорсопатией пояснично-крестцового отдела позвоночника / Корчажкина Н. Б., Купеев Р. В. – Текст: непосредственный // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 193-198.
22. Коршунов О. И. Теория и методика массажа: руководство для врачей / Коршунов О. И., Еремушкина М. А. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 208 с. – Текст: непосредственный.
23. Криворучко В. И. Справочник по курортной медицине и спортивно-оздоровительному туризму в Российской Федерации / Криворучко В. И., Нелюбин В. В. – Москва: Советский спорт, 2013. – 208 с. – Текст: непосредственный.
24. Литвиненко В. М. Коррекция липотоксичности в эффективном и безопасном управлении сахарным диабетом 2-го типа: дис. ... на соиск. уч. степ. канд мед. наук / Литвиненко В. М. – Москва, 2020. – 146 с. – Текст: непосредственный.

25. Лысенков С. П. Функциональные и молекулярно-генетические реакции в условиях проведения оздоровительных программ у лиц с избыточной массой тела / Лысенков С. П., Корчажкина Н. Б., Тхакушинов Р. А., Тугуз А. Р. – Текст: непосредственный // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 9-14.
26. Николаев Ю. С. Голодание ради здоровья / Ю. С. Николаев, Е. И. Нилов, В. Г. Черкасов. – 2-е издание, дополненное. – Москва: Советская Россия, 1973. – 240 с. – Текст: непосредственный.
27. Оказание медицинской помощи взрослому населению по снижению избыточной массы: Письмо Министерства здравоохранения и социального развития. Методические рекомендации / Кривонос О. В., Бойцов С. А., Еганян О. В. [и др.]. – Москва, 2012. – 51 с. – Текст: непосредственный.
28. Поддубная О. А. Низкоинтенсивная лазеротерапия в клинической практике. Часть 1 / Поддубная О. А. – Текст: непосредственный // Вестник восстановительной медицины. – 2020. – № 6(100). – С. 92-99.
29. Пупышев А. Б. Репаративная аутофагия и аутофаговая гибель клетки. Функциональные и регуляторные аспекты / Пупышев А. Б. – Текст: непосредственный // Цитология. – 2014. – № 3 (56). – С. 179-196.
30. Снигур Г. Л. Роль аутофагии в поддержании баланса клеточной популяции инсулоцитов / Снигур Г. Л., Сурин С. С. – Текст: непосредственный // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2021. – № 3. – С. 17-22.
31. Толоконин О. А. Разработка и обоснование диагностического комплекса для оценки функциональных резервов организма в практике восстановительной медицины: автореф. дис. ... на соиск. уч. степ. канд. мед. наук / Толоконин О. А. – Москва, 2007. – 23 с. – Текст: непосредственный.
32. Тхакушинов И. А. Особенности активности аутофагии у женщин в зависимости от массы и возраста / Тхакушинов И. А., Лысенков С. П. – Текст: непосредственный // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2021. – № 3. – С. 30-35.

33. Тхакушинов И. А. Оценка процесса аутофагии у мужчин разной массы в различные возрастные периоды / Тхакушинов И. А. // Национальная ассоциация ученых. – Санкт-Петербург, 2021. - №68. – С. 7-12.
34. Тхакушинов И. А. Реакция аутофагии при полной пищевой депривации у человека / Тхакушинов И. А., Лысенков С. П. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Серия Биология. Химия. - Симферополь, 2022.-Том 8(74), №2. – С.218-227.
35. Тхакушинов И.А. Физиологическая активность аутофагии при ограничении калорийности питания у мужчин / Тхакушинов И.А., Лысенков С.П. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Серия Биология. Химия. – Симферополь, 2021. – Том 7(73), №3. – С. 220-229.
36. Тхакушинов Р. А. Современные подходы к разработке и оценке эффективности индивидуальных оздоровительных программ у лиц с избыточной массой и ожирением: автореф. дис. ... на соиск. уч. степ. канд. мед. наук / Тхакушинов Р. А. – Москва, 2020. – 22 с. – Текст: непосредственный.
37. Уракова Т. Ю. Методологические основы и принципы дифференцированного применения технологий восстановительного лечения лиц с артериальной гипертонией и ожирением: автореф. дис. ... на соиск. уч. степ. канд. мед. наук / Уракова Т. Ю. – Майкоп, 2010. – 44 с. – Текст: непосредственный.
38. Шарова Л. В. Оценка психологического состояния адаптационных возможностей организма и их коррекция при стрессе биоинформационными методами на примере обострений цервикальной дорсопатии / Шарова Л. В., Исаков М. Н., Абызова Т. В. – Текст: непосредственный // Вестник восстановительной медицины. – 2008. – № 1 (23). – С. 21-23.
39. Юдакова О. Ф. Основы реабилитации. Общий массаж: учебное пособие / Юдакова О. Ф. – Москва: Лань, 2020. – 88 с. – Текст: непосредственный.
40. Якимович Е. П. Возрастная анатомия, физиология и гигиена: учебное пособие для вузов / Якимович Е. П., Немцова В. В., Ключников Д. А. – Владивосток: Школа педагогики, 2018. – 54 с. – Текст: непосредственный.

41. Ahmad O. B., Boschi-Pinto C., Lopez A. D. [et al.] Age standardization of rates: a new who standard. – Text: direct // World Health Organization. – 2001. – № 31.
42. Alirezai M., Kemball C. C., Flynn C. T. [et al.] Short-term fasting induces profound neuronal autophagy. – Text: direct // Autophagy. – 2010. – № 6. – P. 702-710.
43. Amaravadi R. Recent insights into the function of autophagy in cancer / Amaravadi R., Kimmelman A.C., White E. – Text: direct // Genes and development. – 2016. – № 30 (17). – P. 1913-1930.
44. Anson R.M., Guo Z., de Cabo R. [et al.] Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. – Text: direct // Proceedings of the national academy of sciences of the USA. – 2003. – № 100 (10). – P. 6216-6220.
45. Arico S., Petiot A., Bauvy C. [et al.] The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. – Text: direct // The journal of biological chemistry. – 2001. – № 276 (38). – P. 35243-35246.
46. Aris J.P., Alvers A.L., Ferraiuolo R.A. [et al.] Autophagy and leucine promote chronological longevity and respiration proficiency during calorie restriction in yeast. – Text: direct // Experimental gerontology. – 2013. – № 48 (10). – P. 1107-1119.
47. Ashkenazi A., Bento C.F., Ricketts T. [et al.] Polyglutamine tracts regulate beclin 1-dependent autophagy. – Text: direct // Nature. – 2017. – № 545 (7652). – P. 108-111.
48. Arstila A. U. Studies on cellular autophagocytosis. The formation of autophagic vacuoles in the liver after glucagon administration / Arstila A. U., Trump B. F. – Text: direct // The American journal of pathology. – 1968. - № 35 (5). – P. 687-733.
49. Baerga R., Zhang Y., Chen P. H. [et al.] Targeted deletion of autophagy-related 5 (atg5) impairs adipogenesis in a cellular model and in mice. – Text: direct // Autophagy. – 2009. – № 5 (8). – P. 1118-1130.
50. Bai B., Wang X., Li Y. [et al.] Deep multilayer brain proteomics identifies molecular networks in Alzheimer's disease progression. – Text: direct // Neuron. – 2020. – № 105 (6). – P. 975-991.

51. Balasubramanian P. Aging, nutrient signaling, hematopoietic senescence, and cancer / Balasubramanian P., Longo V. D. – Text: direct // Critical reviews in oncogenesis. – 2013. – № 18 (6). – P. 559-571.
52. Bang Y., Kim K.S., Seol W. [et al.] LRRK2 interferes with aggresome formation for autophagic clearance. – Text: direct // Molecular and cellular neurosciences. – 2016. – № 75. – P. 71–80.
53. Barbosa M. C. Hallmarks of aging: an autophagic perspective – Barbosa M. C., Grosso R. A., Fader C. M. – Text: direct // Frontiers in endocrinology. – 2019. – № 9. – P. 790.
54. Berger Z., Ravikumar B., Menzies F.M. [et al.] Rapamycin alleviates toxicity of different aggregate-prone proteins. – Text: direct // Human molecular genetics. – 2006. – № 15 (3). – P. 433-442.
55. Berthet J. Tissue fractionation studies. 1. The existence of a mitochondria-linked, enzymically inactive form of acid phosphatase in rat-liver tissue / Berthet J., De Duve C. – Text: direct // Biochemical journal. – 1951. – № 50 (2). – P. 174-181.
56. Birgisdottir A. B. The LIR motif-crucial for selective autophagy / Birgisdottir A. B., Lamark T., Johansen T. – Text: direct // Journal of cell science. – 2013. – № 126 (15). – P. 3237-3247.
57. Bordet J. Microbic transmissible autolysis / Bordet J. – Text: direct // The British medical journal. – 1922.
58. Bordi M., Berg M. J., Mohan P. S. [et al.] Autophagy flux in CA1 neurons of Alzheimer hippocampus: Increased induction overburdens failing lysosomes to propel neuritic dystrophy. – Text: direct // Autophagy. – 2016. – № 12. – P. 2467-2483.
59. Bouwens M. Fasting induces changes in peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles related to increases in fatty acid beta-oxidation: functional role of peroxisome proliferator activated receptor alpha in human peripheral blood mononuclear cells / Bouwens M., Afman L.A., Muller M. – Text: direct // The American journal of clinical nutrition. – 2007. – № 86 (5). – P. 1515-1523.

60. Byrnes K., Blessinger S., Bailey N. T. [et al.] Therapeutic regulation of autophagy in hepatic metabolism. – Text: direct // *Acta pharmaceutica sinica*. – 2022. – № 12 (1). – P. 33-49.
61. Cabioğlu M. T., Aslan E., Karabey S. Z. [et al.] Эффекты биорезонансной терапии у мышей с депрессивно-подобным поведением. – Текст: непосредственный // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2022. – № 3. – С. 318-322. – Text: direct // *Annual review of nutrition*. – 2006. – № 26. – P. 1-22.
62. Carosi J. M., Hein L. K., Van Den Hurk M. [et al.] Retromer regulates the lysosomal clearance of MAPT/tau. – Text: direct // *Autophagy*. – 2020. – № 17 (9). – P. 2217-2237.
63. Carosi J. M. Retromer dysfunction at the nexus of tauopath / Carosi J. M., Denton D., Kumar S. – Text: direct // *Cell death and differentiation*. – 2021. – № 28 (3). – P. 884-899.
64. Chen D., Bruno J., Ealson E., Li S.J. [et al.] Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. – Text: direct // *Genes and development*. – 2008. – № 22 (13). – P. 1753-1757.
65. Chen W. Autophagy in muscle regeneration: potential therapies for myopathies / Chen W., Chen Y., Liu Y., Wang X. – Text: direct // *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. – 2022. – № 13 (3). – P. 1673-1685.
66. Chen X., Kondo K., Motoki K. [et al.] Fasting activates macroautophagy in neurons of Alzheimer's disease mouse model but is insufficient to degrade amyloid-beta. – Text: direct // *Nature*. – 2015. – № 5. – P. 12115.
67. Chiok K., Pokharel S.M., Mohanty I. [et al.] Human respiratory syncytial virus ns2 protein induces autophagy by modulating beclin1 protein stabilization and isgylation. – Text: direct // *mBio*. – 2022. – № 13 (1). –P. 0352821.
68. Choi I., Zhang Y., Seegobin S.P. [et al.] Microglia clear neuron-released alpha-synuclein via selective autophagy and prevent neurodegeneration. – Text: direct // *Nature communications*. – 2020. – № 11 (1). – P. 1386.



69. Choi J. Y., Jo M. Y., Lee E. Y. [et al.] Differential induction of autophagy by mTOR is associated with abnormal apoptosis in ovarian endometriotic cysts. – Text: direct // *Mol Hum Reprod.* – 2014. – № 20 (4). – P. 309-317.
70. Chu C. T. Mechanisms of selective autophagy and mitophagy: implications for neurodegenerative diseases / Chu C. T. – Text: direct // *Neurobiology of disease.* – 2019. – № 122. – P. 23-34.
71. Chung K. W. The Effects of Calorie Restriction on Autophagy: Role on Aging Intervention / Chung K. W., Chung H. Y. – Text: direct // *Nutrients.* – 2019. – № 11 (12). – P. 2923.
72. Chung K. W., Kim D. H., Park M. H. [et al.] Recent advances in calorie restriction research on aging. – Text: direct // *Exp. Gerontol.* – 2013. – № 48 (10). – P. 1049-1053.
73. Cohen-Kaplan V., Livneh I., Avni N. [et al.] The ubiquitin-proteasome system and autophagy: Coordinated and independent activities. – Text: direct // *The international journal of biochemistry and cell biology.* – 2016. – № 79. – P. 403-418.
74. Corti O., Blomgren K., Poletti A. [et al.] Autophagy in neurodegeneration: new insights underpinning therapy for neurological diseases. – Text: direct // *Journal of neurochemistry.* – 2020. – № 154 (4). – P. 354-371.
75. Crews L., Spencer B., Desplats P. [et al.] Selective molecular alterations in the autophagy pathway in patients with Lewy body disease and in models of alpha-synucleinopathy. – Text: direct // *PLoS one.* – 2010. – № 5 (2). – P. 9313.
76. Cuervo A.M., Stefanis L., Fredenburg R. [et al.] Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. – Text: direct // *Science.* – 2004. – № 305 (5688). – P. 1292-1295.
77. Cuomo F. Autophagy function and dysfunction: potential drugs as anti-cancer therap / Cuomo F., Altucci L., Cobellis G. – Text: direct // *Cancers.* – 2019. – № 11 (10). – P. 1465.
78. Das S., Roberts S., Bhapkar M. [et al.] Body-composition changes in the comprehensive assessment of long-term effects of reducing intake of energy (CALERIE)-2 study: a 2-y randomized controlled trial of calorie restriction in nonobese humans. –

Text: direct // The American journal of clinical nutrition. – 2017. – № 105 (4). – P. 913-927.

79. De Duve C. Functions of lysosome / De Duve C., Wattiaux R. – Text: direct // Annual review of plant physiology. – 1966. – № 28. – P. 435-492.

80. De Duve C. The lysosome turns fifty / De Duve C. – Text: direct // Nature cell biology. – 2005. – № 7. – P. 847-849.

81. Decressac M., Mattsson B., Weikop P. [et al.] TFEB-mediated autophagy rescues midbrain dopamine neurons from alpha-synuclein toxicity. – Text: direct // Proceedings of the national academy of sciences of the USA. – 2013. – № 110 (19). – P. 1817-1826.

82. Del Roso A., Vittorini S., Cavallini G. [et al.] Ageing-related changes in the in vivo function of rat liver macroautophagy and proteolysis. – Text: direct // Experimental gerontology. – 2003. – № 38 (5). – P. 519-527.

83. Delaney J. R., Patel C.B., Bapat J. [et al.] Autophagy gene haploinsufficiency drives chromosome instability, increases migration, and promotes early ovarian tumors. – Text: direct // PLoS genetics. – 2020. – № 16 (1). – P. 1008558.

84. Deng Z., Purtell K., Lachance V. [et al.] Autophagy receptors and neurodegenerative diseases. – Text: direct // Trends in cell biology. – 2017. – № 27 (7). – P. 491-504.

85. Deretic V. Autophagy in infection, inflammation and immunity / Deretic V., Saitoh T., Akira S. – Text: direct // Nature reviews immunology. – 2013. – № 13 (10). – P. 722-737.

86. Derous D., Mitchell S.E., Wang L. [et al.] The effects of graded levels of calorie restriction: XI. Evaluation of the main hypotheses underpinning the life extension effects of CR using the hepatic transcriptome. – Text: direct // Aging. – 2017. – № 9 (7). – P. 1770-1824.

87. Deter R. L. Participation of lysosomes in cellular autophagy induced in rat liver by glucagon / Deter R. L., De Duve C. – Text: direct // Cell Biology. – 1967. – № 32 (2). – P. 11-16.

88. Dethlefsen M.M. Training state and skeletal muscle autophagy in response to 36 h of fasting / Dethlefsen M.M., Bertholdt L., Gudiksen A. – Text: direct // Journal of applied physiology. – 2018. – № 125 (5). – P. 1609-1619.
89. Dewidar B. Metabolic liver disease in diabetes - From mechanisms to clinical trials / Dewidar B., Kahl S., Pafili K. – Text: direct // Metabolism. – 2020. – e.111S:154299.
90. Dikic I. Selective autophagy in cancer development and therapy / Dikic I., Johansen T., Kirkin V. – Text: direct // Cancer research. – 2010. – № 70 (9). – P. 3431-3434.
91. Donati A., Cavallini G., Paradiso C. [et al.] Age-related changes in the regulation of autophagic proteolysis in rat isolated hepatocytes. – Text: direct // The journals of gerontology. Series A, biological sciences and medical sciences. – 2001. – № 56 (7). – P. 288-293.
92. Dorling J. L., Vliet S., Huffman K. M. [et al.] Effects of caloric restriction on human physiological, psychological, and behavioral outcomes: highlights from CALERIE phase 2. – Text: direct // Nutr Rev. – 2021. – № 79 (1). – P. 98-113.
93. Ebato C., Uchida T., Arakawa M. [et al.] Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet. – Text: direct // Cell metabolism. – 2008. – № 8 (4). – P. 325-332.
94. Elliott I.A., Dann A.M., Xu S. [et al.] Lysosome inhibition sensitizes pancreatic cancer to replication stress by aspartate depletion. – Text: direct // Proceedings of the national academy of sciences of the USA. – 2019. – № 116 (14). – P. 6842-6847.
95. Emmanuel A., Collins B., Henderson M. [et al.] Development of a decision guide for transanal irrigation in bowel disorders. – Text: direct // Gastrointestinal Nursing. – 2019. – № 7 (17). – P. 24-30.
96. Fecto F., Yan J., Vemula S.P. [et al.] SQSTM1 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. – Text: direct // Archives of neurology. – 2011. – № 68 (11). – P. 1440-1446.
97. Ferhat M. Autophagy in adipose tissue physiology and pathophysiology / Ferhat M., Funai K., Boudina S. – Text: direct // Antioxidants and redox signaling. – 2019. – № 31 (6). – P. 487-501.

98. Finn P. F. Proteolytic and lipolytic responses to starvation / Finn P. F., Dice J. F. – Text: direct // Nutrition. – 2006. – № 22. – P.830-844.
99. Fleming A. Autophagy in neuronal development and plasticity / Fleming A., Rubinsztein D. C. – Text: direct // Trends in neuroscience. – 2020. – № 43 (10). – P. 767-779.
100. Fontana L., Villareal D. T., Das S. K. [et al.] Effects of 2-year calorie restriction on circulating levels of IGF-1, IG. – Text: direct // Aging Cell. – 2016. – № 15 (1). – P. 22-27.
101. Fogh-Andersen N. Composition of interstitial fluid / Fogh-Andersen N., Altura B. M., Altura B. T. – Text: direct // Clin Chem. – 1995. – № 41 (10). – P. 1522-1525.
102. Fukuda T. Multiplexed suppression of TOR complex 1 induces autophagy during starvation / Fukuda T., Shiozaki K. – Text: direct // Autophagy. – 2021. – № 17 (7). – P. 1794-1795.
103. Galluzzi L., Baehrecke E., Ballabio A. [et al.] Molecular definitions of autophagy and related processes. – Text: direct // The EMBO journal. – 2017. – № 36 (130). – P. 1811-1836.
104. Ganley I. G., Lam D. H., Wang J. [et al.] ULK1.ATG13.FIP200 complex mediates mTOR signaling and is essential for autophagy. – Text: direct // The journal of biological chemistry. – 2009. – № 284 (18). – P. 12297-12305.
105. Gatica D. Cargo recognition and degradation by selective autophagy / Gatica D., Lahiri V., Klionsky D. J. – Text: direct // Nature cell biology. – 2018. – № 20 (3). – P. 233-242.
106. National human genome research institute. Genome-wide association studies fact sheet. Available at: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Genome-Wide-Association-Studies-Fact-Sheet> (Accessed 17 august, 2020).
107. Gerhart-Hines Z., Rodgers J. T., Bare O. [et al.] Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1alpha. – Text: direct // The EMBO journal. – 2007. – № 26 (7). – P. 1913-1923.

108. Gilányi M., Ikrényi C., Fekete J. [et al.] Ion concentrations in subcutaneous interstitial fluid: measured versus expected values. – Text: direct // *Am J Physiol.* – 1988. – № 255. – P. 513-519.
109. Glick D. Autophagy cellular and molecular mechanisms / Glick D., Barth S., Macleod K. F. – Text: direct // *The journal of pathology.* – 2010. – № 221 (1). – P. 3-12.
110. Godar R.J., Ma X., Liu H. [et al.] Repetitive stimulation of autophagy-lysosome machinery by intermittent fasting preconditions the myocardium to ischemia-reperfusion injury. – Text: direct // *Autophagy.* – 2015. – № 11 (9). – P. 1537-1560.
111. Goginashvili A., Zhang Z., Erbs E. [et al.] Insulin granules. Insulin secretory granules control autophagy in pancreatic  $\beta$  cells. – Text: direct // *Science.* – 2015. – Vol. 347 (6224). – P. 878-882.
112. Goruppi S. A role for stromal autophagy in cancer-associated fibroblast activation / Goruppi S., Clocchiatti A., Dotto G. P. – Text: direct // *Autophagy.* – 2019. – № 15 (4). – P. 738-739.
113. Gstrein T., Edwards A., Přistoupilová A. [et al.] Mutations in Vps15 perturb neuronal migration in mice and are associated with neurodevelopmental disease in humans. – Text: direct // *Nature neuroscience.* – 2018. – 21 (2). – P. 207-217.
114. Guo J.Y., Teng X., Laddha S.V. [et al.] Autophagy provides metabolic substrates to maintain energy charge and nucleotide pools in Ras-driven lung cancer cells. – Text: direct // *Genes Dev.* – 2016. – № 30 (15). – P. 1704-1717.
115. Guo J., Yang Z., Yang X. [et al.] miR-346 functions as a pro-survival factor under ER stress by activating mitophagy. – Text: direct // *Cancer Lett.* – 2018. – № 413. – P. 69-81.
116. Hamacher-Brady A. Mitophagy programs: mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy / Hamacher-Brady A., Brady N. R. – Text: direct // *Cell and molecular life sciences: CMLS.* – 2015. – № 73 (4). – P. 775-795.
117. Hara T., Nakamura K., Matsui M. [et al.] Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. – Text: direct // *Nature.* – 2006. – № 441 (7095). – P. 885-889.

118. Harvie M. N., Pegington M., Mattson M. P. [et al.] The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. – Text: direct // International journal of obesity. – 2011. – № 35 (5). – P. 714-727.
119. Henderson M. Transanal irrigation as a treatment for bowel dysfunction / Henderson M., Tinkler L., Yiannakou Y. – Text: direct // Gastrointestinal Nursing. – 2018. – № 4 (16). – P. 26-34.
120. Horio Y., Hayashi T., Kuno A. [et al.] Cellular and molecular effects of sirtuins in health and disease. – Text: direct // Clinical science. – 2011. – № 121 (5). – P. 191-203.
121. Hosokawa N., Hara T., Kaizuka T. [et al.] Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. – Text: direct // Molecular biology of cell. – 2009. – № 20 (7). – P. 1981-1991.
122. Hou X., Xu S., Maitland-Toolan K. A. [et al.] SIRT1 regulates hepatocyte lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase. – Text: direct // J Biol Chem. – 2008. – № 283 (29). – P. 20015-20026.
123. Jaishy B., Zhang Q., Chung H. S. [et al.] Lipid-induced NOX2 activation inhibits autophagic flux by impairing lysosomal enzyme activity. – Text: direct // Journal of lipid research. – 2015. – № 56 (3). – P. 546-561.
124. Jelani M., Dooley H.C., Gubas A. [et al.] A mutation in the major autophagy gene, WIPI2, associated with global developmental abnormalities. – Text: direct // Brain. – 2019. – № 142 (5). – P. 1242-1254.
125. Jin S. M. PINK1- and Parkin-mediated mitophagy at a glance / Jin S. M., Youle R. J. – Text: direct // Journal of cell science. – 2012. – № 125 (4). – P. 795-799.
126. Jung H. S., Chung K. W., Won Kim J. [et al.] Loss of autophagy diminishes pancreatic beta cell mass and function with resultant hyperglycemia. – Text: direct // Cell metabolism. – 2008. – № 8 (4). – P. 318-324.
127. Kahleova H., Belinova L., Malinska H. [et al.] Eating two larger meals a day (breakfast and lunch) is more effective than six smaller meals in a reduced-energy regimen for patients with type 2 diabetes: a randomised crossover study. – Text: direct // Diabetologia. – 2014. – № 57 (8). – P. 1552-1560.

128. Kang M. R., Kim M. S., Oh J. E. [et al.] Frameshift mutations of autophagy-related genes ATG2B, ATG5, ATG9B and ATG12 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. – Text: direct // The journal of pathology. – 2009. – № 217 (5). – P. 702-706.
129. Kaushik S. The coming of age of chaperone-mediated autophagy / Kaushik S., Cuervo A. M. – Text: direct // Nature reviews: molecular cell biology. – 2018. – № 19 (6). – P. 365-381.
130. Khamzina L., Veilleux A., Bergeron S. [et al.] Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: possible involvement in obesity-linked insulin resistance. – Text: direct // Endocrinology. – 2005. – № 146 (3). – P. 1473-1481.
131. Kihara A., Kabeya Y., Ohsumi Y. [et al.] Beclin-phosphatidylinositol 3-kinase complex functions at the trans-Golgi network. – Text: direct // EMBO reports. – 2001. – № 2 (4). – P. 330-335.
132. Kim M. Autophagy and human neurodegenerative diseases-A fly's perspective / Kim M., Ho A., Lee J. H. – Text: direct // International journal of molecular sciences. – 2017. – № 18 (7). – P. 1596.
133. Kim Y. A., Kim Y. S., Oh S. L. [et al.] Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. – Text: direct // Journal of physiology and biochemistry. – 2013. – № 69. – P. 697-705.
134. Kimmelman A. C. Autophagy and tumor metabolism / Kimmelman A. C., White E. – Text: direct // Cell metabolism. – 2017. – №25(5). – P. 1037-1043.
135. Kirkin V. Role for Ubiquitin in Selective Autophagy / Kirkin V., McEwan D. G., Novak I. – Text: direct // Molecular cell. – 2009. – № 34 (3). – P. 259-269.
136. Klionsky D. J., Abdelmohsen K., Abe A. [et al.] Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). – Text: direct // Autophagy. – 2016. – № 12 (1). – P. 1-222.
137. Koga H. Altered lipid content inhibits autophagic vesicular fusion / Koga H., Kaushik S., Cuervo A. M. – Text: direct // FASEB journal. – 2017. – № 24 (8). – P. 3052-3065.

138. Kocak M., Erdi S. E., Jorba G. [et al.] Targeting autophagy in disease: established and new strategie. – Text: direct // *Autophagy*. – 2021. – № 18 (3). – P. 473-495.
139. Komatsu M., Waguri S., Chiba T. [et al.] Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. – Text: direct // *Nature*. – 2006. – № 441 (7095). – P. 880–884.
140. Kovsan J., Blüher M., Tarnovscki T. [et al.] Altered autophagy in human adipose tissues in obesity. – Text: direct // *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2011. – № 96 (2). – P. 268–277.
141. Kraus W.E., Bhapkar M., Huffman K.M. [et al.] 2 Years of calorie restriction and cardiometabolic risk (CALERIE): exploratory outcomes of a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. – Text: direct // *The lancet. Diabetes and endocrinology*. – 2019. – № 7 (9). – P. 673-683.
142. Kume S., Uzu T., Horiike K. [et al.] Calorie restriction enhances cell adaptation to hypoxia through Sirt1-dependent mitochondrial autophagy in mouse aged kidney. – Text: direct // *The journal of clinical investigation*. – 2010. – № 120 (1). – P. 1043-1055.
143. Lapaquette P. L'autophagie garante de l'immunité et de l'inflammation / Lapaquette P, Nguyen T. T. H., Faure M. – Text: direct // *Medecine sciences*. – 2017. – № 33 (3). – P. 305-311.
144. Laplante M., Sabatini D. M. mTOR signaling in growth control and disease. – Text: direct // *Cell*. – 2012. – № 149 (2). – P. 274-293.
145. Las G., Serada S. B., Wikstrom J. D. [et al.] Fatty acids suppress autophagic turnover in beta-cells. – Text: direct // *The journal of biological chemistry*. – 2011. – № 286. – P. 42534-42544.
146. Lee D. E. Autophagy as a Therapeutic Target to Enhance Aged Muscle Regeneration / Lee D. E., Bareja A., Bartlett D. B. – Text: direct // *Cells*. – 2019. – № 2 (2). – P. 183.
147. Lee J. H., Yu W. H., Kumar A. [et al.] Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. – Text: direct // *Cell*. – 2010. – № 141 (7). – P. 1146-1158.



148. Lebovitz C. B., Robertson A. G., Goya R. [et al.] Cross-cancer profiling of molecular alterations within the human autophagy interaction network. – Text: direct // *Autophagy*. – 2015. – № 11 (9). – P. 1668-1687.
149. Leclerc E., Trevizol A. P., Grigolon R. B. [et al.] The effect of caloric restriction on working memory in healthy non-obese adults. – Text: direct // *CNS spectrums*. – 2020. – № 25 (1). – P. 2-7.
150. Levine B. Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective / Levine B., Kroemer G. – Text: direct // *Cell*. – 2019. – № 176 (1-2). – P. 11-42.
151. Lee B. B., Kim Y., Kim D. [et al.] Metformin and tenovin-6 synergistically induces apoptosis through LKB1-independent SIRT1 down-regulation in non-small cell lung cancer cells. – Text: direct // *J Cell Mol Med*. – 2019. – № 23 (4). – P. 2872-2889.
152. Li W., He P., Huang Y. [et al.] Selective autophagy of intracellular organelles: recent research advances. – Text: direct // *Theranostics*. – 2021. – № 11 (1). – P. 222-256.
153. Li W-w. Microautophagy: lesser-known self-eating / Li W-w., Li J., Bao J-k. – Text: direct // *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. – 2012. - № 69 (7). – P. 1125-1136.
154. Libert S. Metabolic and neuropsychiatric effects of calorie restriction and sirtuins / Libert S., Guarente L. – Text: direct // *Annual review of physiology*. – 2013. – № 75. – P. 669-684.
155. Liu A. Y., Zhang Q. B., Zhou Y. [et al.] Role of autophagy in the maintenance of skeletal muscle mass. – Text: direct // *China journal of orthopaedics and traumatology*. – 2022. – № 35 (4). – P. 374-378.
156. Liu H. Y., Han J., Cao S. Y. [et al.] Hepatic autophagy is suppressed in the presence of insulin resistance and hyperinsulinemia: inhibition of FoxO1-dependent expression of key autophagy genes by insulin. – Text: direct // *The journal of biological chemistry*. – 2017. – № 284 (45). – P. 31484-31492.
157. Liu H., Javaheri A., Godar R. J. [et al.] Intermittent fasting preserves beta-cell mass in obesity-induced diabetes via the autophagy-lysosome pathway. – Text: direct // *Autophagy*. – 2017. – № 13 (11). – P. 1952-1968.

158. Longo V. D. Calorie restriction and cancer prevention: metabolic and molecular mechanisms / Longo V. D., Fontana L. – Text: direct // Trends in pharmacological sciences. – 2010. – № 31 (2). – P. 89-98.
159. Longo V. D. Intermittent supplementation with rapamycin as a dietary restriction mimetic / Longo V. D., Fontana L. – Text: direct // Aging. – 2011. – № 3 (11). – P. 1039-1040.
160. Longo V. D. Chronological aging in *Saccharomyces cerevisiae* / Longo V. D., Fabrizio P. – Text: direct // Sub-cellular biochemistry. – 2012. – № 57. – P. 101-121.
161. Longo V. D. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications / Longo V. D., Mattson M. P. – Text: direct // Cell metabolism. – 2015. – № 19 (2). – P. 181-192.
162. Lu D. L., Ma Q., Wang J. [et al.] Fasting enhances cold resistance in fish through stimulating lipid catabolism and autophagy. – Text: direct // The journal of physiology. – 2019. – № 597 (6). – P. 1585-1603.
163. Luévano-Martínez L. A., Forni M. F., Peloggia J. [et al.] Calorie restriction promotes cardiolipin biosynthesis and distribution between mitochondrial membranes. – Text: direct // Mechanism of ageing and development. – 2017. – № 162. – P. 9-17.
164. Mainz L., Rosenfeldt M. T. Autophagy and cancer - insights from mouse models. – Text: direct // The FEBS journal. – 2018. – № 285 (5). – P. 792-808.
165. Mallucci G. R. Developing therapies for neurodegenerative disorders: insights from protein aggregation and cellular stress responses / Mallucci G. R., Klenerman D., Rubinsztein D. C. – Text: direct // Annual review cell developmental biology. – 2020. – № 36. – P. 165-189.
166. Mammucari C., Milan G., Romanello V. [et al.] FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. – Text: direct // Cell Metabolism. – 2007. – № 6 (6). – P. 458-471.
167. Martin C. K., Bhapkar M., Pittas A. G. [et al.] Effect of calorie restriction on mood, quality of life, sleep, and sexual function in healthy nonobese adults the CALERIE 2 randomized clinical trial. – Text: direct // JAMA internal medicine. – 2016. – № 176 (6). – P. 743-752.

168. Martinez-Lopez N., Tarabra E., Toledo M. [et al.] System-wide benefits of intermeal fasting by autophagy. – Text: direct // Cell metabolism. – 2017. – № 26 (6). – P. 856-871.
169. Margariti A., Li H., Chen T. [et al.] XBP1 mRNA splicing triggers an autophagic response in endothelial cells through BECLIN-1 transcriptional activation. – Text: direct // The journal of biological chemistry. – 2013. – № 288 (2). – P. 859-872.
170. Maruyama H., Morino H., Ito H. [et al.] Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. – Text: direct // Nature. – 2010. – № 465 (7295). – P. 223-226.
171. Mattie P. Biochemistry and function of vacuoles / Mattie P. – Text: direct // Annual review of plant physiology. – 1978. – № 29. – P. 193-213.
172. Mattson M. P. Impact of intermittent fasting on health and disease processes / Mattson M. P., Longo V. D., Harvie M. – Text: direct // Ageing research reviews. – 2017. – № 39. – P. 46-58.
173. Mei Y., Thompson M. D., Cohen R. A. [et al.] Autophagy and oxidative stress in cardiovascular diseases. – Text: direct // Biochimica et biophysica acta. – 2015. – № 1852 (2). – P. 243-251.
174. Meijer A. J. Regulation and role of autophagy in mammalian cells / Meijer A. J., Codagno P. – Text: direct // The international journal of biochemistry and cell biology. – 2004. – № 36 (12). – P. 2445-2462.
175. Meng Q. Defective hypothalamic autophagy directs the central pathogenesis of obesity via the IkappaB kinase beta (IKKbeta)/NF-kappaB pathway / Meng Q., Cai D. – Text: direct // The journal of biological chemistry. – 2011. – № 286. – P. 32324-32332.
176. Menzies F. M., Fleming A., Caricasole A. [et al.] Autophagy and Neurodegeneration: pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities. – Text: direct // Neuron. – 2017. – № 93 (5). – P. 1015-1034.
177. Meydani S. N., Das S. K., Pieper C. F. [et al.] Long-term moderate calorie restriction inhibits inflammation without impairing cell-mediated immunity: a randomized controlled trial in non-obese humans. – Text: direct // Aging. – 2016. – № 8 (7). – P.1416-1431.

178. Mizushima N. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker / Mizushima N., Yamamoto A., Matsui M. – Text: direct // *Molecular biology of the cell*. – 2004. – № 15 (3). – P. 1101-1111.
179. Mizushima N. How to interpret LC3 immunoblotting / Mizushima N, Yoshimori T. – Text: direct // *Autophagy*. – 2007. – № 3 (6). – P. 542-545.
180. Mizushima N. Autophagy in mammalian development and differentiation / Mizushima N., Levine B. – Text: direct // *Nature cell biology*. – 2010. – № 12. – P. 823-830.
181. Mizushima N. Autophagy: Renovation of Cells and Tissues / Mizushima N., Komatsu M. – Text: direct // *Cell*. – 2011. – № 147 (4). – P. 728-741.
182. Morselli E., Maiuri M. C., Markaki M. [et al.] Caloric restriction and resveratrol promote longevity through the Sirtuin-1-dependent induction of autophagy. – Text: direct // *Cell death and disease*. – 2010. – № 1 (1). – P. 1-10.
183. Muralidharan C., Conteh A. M., Marasco M. R. [et al.] Pancreatic beta cell autophagy is impaired in type 1 diabetes. – Text: direct // *Diabetologia*. – 2021. – Vol. 64 (4). – P. 865-877.
184. Murthy A., Li Y., Peng I. [et al.] A Crohn's disease variant in Atg16l1 enhances its degradation by caspase 3. – Text: direct // *Nature*. – 2014. – Vol. 506. – P. 456-462.
185. Nakamura S., Oba M., Suzuki M. [et al.] Suppression of autophagic activity by Rubicon is a signature of aging. – Text: direct // *Nature communications*. – 2019. – № 10 (1). – P. 847.
186. Nakatogawa H. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast / Nakatogawa H., Suzuki K., Kamada Y. – Text: direct // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2009. – № 10. – P. 458-467.
187. Narendra D. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy/ Narendra D., Tanaka A., Suen D. F. – Text: direct // *Journal of cell biology*. – 2008. – № 185(3). – P. 795-803.

188. Neville C. E., Patterson C. C., Linden G. J. [et al.] The relationship between adipokines and the onset of type 2 diabetes in middle-aged men: The PRIME study. – Text: direct // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2016. – Vol. 120. – P. 24-30.
189. Nguyen H. T. T. Autophagy and Crohn's Disease / Nguyen H. T. T., Lapaquette P., Bringer M. A. – Text: direct // *Journal of innate immunity.* – 2013. – № 5. – P. 434-443.
190. Nie Y., Erion D. M., Yuan Z. [et al.] STAT3 inhibition of gluconeogenesis is downregulated by SirT1. – Text: direct // *Nature cell biology.* – 2009. – № 11. – P. 492-500.
191. Nighot P. K. Autophagy enhances intestinal epithelial tight junction barrier function by targeting claudin-2 protein degradation / Nighot P. K., Hu C. A. A., Ma T. Y. – Text: direct // *Journal of biological chemistry.* – 2015. – № 290 (11). – P. 7234-7246.
192. Ning Y. C., Cai G. Y., Zhuo L. [et al.] Beneficial effects of short-term calorie restriction against cisplatin-induced acute renal injury in aged rats. – Text: direct // *Nephron. Experimental nephrology.* – 2013. – № 124 (3/4). – P. 19-27.
193. Novikoff B. Electron microscopy of lysosome-rich fractions from rat liver / Novikoff B., Beaufay H., De Duve C. – Text: direct // *The journal of biophysical and biochemical cytology.* – 1956. – № 2 (2). – P. 179-184.
194. Nunez C. E., Rodrigues V. S., Gomes F. S. [et al.] Defective regulation of adipose tissue autophagy in obesity. – Text: direct // *International journal of obesity.* – 2013. – № 37. – P. 1473-1480.
195. Ohsumi Y. Historical landmarks of autophagy research / Ohsumi Y. – Text: direct // *Cell research.* – 2013. – № 24. – P. 9-23.
196. Ost A., Svensson K., Ruishalme L. [et al.] Attenuated mTOR signaling and enhanced autophagy in adipocytes from obese patients with type 2 diabetes. – Text: direct // *Molecular medicine.* – 2010. – № 16 (7/8). – P. 235-246.
197. Palm N.W., De Zoete M.R., Cullen T.W. [et al.] Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. – Text: direct // *Cell.* – 2014. – № 158. – P. 1000-1010.

198. Parkhitko A. A. Autophagy: mechanisms, regulation, and its role in tumorigenesis / Parkhitko A. A., Favorova O. O., Henske E. P. – Text: direct // *Biochemistry. Biokhimiia*. – 2013. – № 78 (4). – P. 355-367.
199. Parzych K. P. An Overview of Autophagy: Morphology, Mechanism, and Regulation / Parzych K. P., Klionsky D. J. – Text: direct // *Antioxidants and redox signaling*. – 2014. – № 20 (3). – P. 460-473.
200. Pfeifer U. Inhibition by insulin of cellular autophagy in proximal tubular cells of rat kidney / Pfeifer U., Warmuth-Metz M. – Text: direct // *The American journal of physiology*. – 1983. – № 244 (2). – P. 109-114.
201. Picard F., Kurtev M., Chung N. [et al.] Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. – Text: direct // *Nature*. – 2004. – № 429 (6993). – P. 771-776.
202. Pickford F., Masliah E., Britschgi M. [et al.] The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice. – Text: direct // *The journal of clinical investigation*. – 2008. – № 118 (6). – P. 2190-2199.
203. Pickrell A. M. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease / Pickrell A. M., Youle R. J. – Text: direct // *Neuron*. – 2015. – № 85 (2). – P. 257-273.
204. Pires K. M., Buffolo M., Schaaf C. [et al.] Activation of IGF-1 receptors and Akt signaling by systemic hyperinsulinemia contributes to cardiac hypertrophy but does not regulate cardiac autophagy in obese diabetic mice. – Text: direct // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2017. – № 113. – P. 39-50.
205. Pietrocola F., Demont Y., Castoldi F. [et al.] Metabolic effects of fasting on human and mouse blood in vivo. – Text: direct // *Autophagy*. – 2017. – № 13 (3). – P. 567-578.
206. Ponugoti B., Kim D. H., Xiao Z. [et al.] SIRT1 deacetylates and inhibits SREBP-1C activity in regulation of hepatic lipid metabolism. – Text: direct // *The journal of biological chemistry*. – 2010. – № 285 (44). – P. 33959-33970.

207. Popelka H. Chapter seven - dancing while self-eating: protein intrinsic disorder in autophagy / Popelka H. – Text: direct // Progress in molecular biology and translational science. – 2020. – № 174. – P. 263-305.
208. Qiu G., Li X., Wei C. [et al.] The prognostic role of sirt1-autophagy axis in gastric cancer. – Text: direct // Disease markers. – 2016. – P. 6869415.
209. Racette S. B., Rochon J., Uhrich M. L. [et al.] Effects of two years of calorie restriction on aerobic capacity and muscle strength. – Text: direct // Medicine and science in sports and exercise. – 2017. – № 49 (11). – P. 2240-2249.
210. Ravindran R., Loebbermann J., Nakaya H. I. [et al.] The amino acid sensor GCN2 controls gut inflammation by inhibiting inflammasome activation. – Text: direct // Nature. – 2016. – № 531. – P. 523-527.
211. Ravussin E., Redman L. M., Rochon J. [et al.] A 2-year randomized controlled trial of human caloric restriction: feasibility and effects on predictors of health span and longevity. – Text: direct // The journal of gerontology. Series A, biological sciences and medical sciences. – 2015. – № 70 (9). – P. 1097-1104.
212. Redman L. M., Smith S. R., Burton J. H. [et al.] Metabolic slowing and reduced oxidative damage with sustained caloric restriction support the rate of living and oxidative damage theories of aging. – Text: direct // Cell metabolism. – 2018. – № 27 (4). – P. 805-814.
213. Rickenbacher A., Jang J. H., Limani P. [et al.] Fasting protects liver from ischemic injury through Sirt1-mediated downregulation of circulating HMGB1 in mice. – Text: direct // Journal of hepatology. – 2014. – № 61 (2). – P. 301-308.
214. Rivera J. F., Costes S., Gurlo T. [et al.] Autophagy defends pancreatic beta cells from human islet amyloid polypeptide-induced toxicity. – Text: direct // The journal of clinical investigation. – 2014. – № 124 (8). – P. 3489-3500.
215. Roca-Agujetas V., De Dios C., Leston L. [et al.] Recent insights into the mitochondrial role in autophagy and its regulation by oxidative stress. – Text: direct // Oxidative medicine and cellular longevity. – 2019. – A.3809308.

216. Rodgers J. T., Lerin C., Gerhart-Hines Z. [et al.] Metabolic adaptations through the PGC-1 alpha and SIRT1 pathways. – Text: direct // FEBS letters. – 2008. – № 582 (1). – P. 46-53.
217. Rogov V. V., Stolz A., Ravichandran A. C. [et al.] Structural and functional analysis of the GABARAP interaction motif (GIM). – Text: direct // EMBO reports. – 2017. – № 18 (8). – P. 1382-1396.
218. Saito T., Ichimura Y., Taguchi K. [et al.] p62/Sqstm1 promotes malignancy of HCV-positive hepatocellular carcinoma through Nrf2-dependent metabolic reprogramming. – Text: direct // Nature communications. – 2016. – № 7 (1). – P. 12030.
219. Saitsu H., Nishimura T., Muramatsu K. [et al.] De novo mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. – Text: direct // Nature genetics. – 2013. – № 45 (4). – P. 445-449.
220. Schneider J. L. Liver autophagy: much more than just taking out the trash / Schneider J. L., Cuervo A. M. – Text: direct // Nature reviews gastroenterology & hepatology. – 2014. – № 11. – P. 187-200.
221. Schroeder S., Hofer S. J., Zimmermann A. [et al.] Dietary spermidine improves cognitive function. – Text: direct // Cell report. – 2021. – № 35 (2). – A.108985.
222. Sciarretta S., Hariharan N., Monden Y. [et al.] Is autophagy in response to ischemia and reperfusion protective or detrimental for the heart. – Text: direct // Pediatric cardiology. – 2011. – № 32(3). – P. 275-281.
223. Scrivo A. Selective autophagy as a potential therapeutic target for neurodegenerative disorders / Scrivo A., Bourdenx M., Pampliega O. – Text: direct // Lancet Neurol. – 2018. – № 17(9). – P. 802-815.
224. Seaman M. N. J. The retromer complex: from genesis to revelations / Seaman M. N. J. – Text: direct // Trends in biochemical sciences. – 2021. – № 46 (7). – P. 608–620.
225. Settembre C, Di M. C, Polito V. A. [et al.] FEED links autophagy to lysosomal biogenesis. – Text: direct // Science. – 2011. – № 332. – P. 1429-1433.
226. Settembre C, De CR, Mansueto G. [et al.] TFEB controls cellular lipid metabolism through a starvation-induced autoregulator loop. – Text: direct // Nature cell biology. – 2013. – № 15 (6). – P. 647-658.



227. Silva M. C., Nandi G. A., Tentarelli S. [et al.] Prolonged tau clearance and stress vulnerability rescue by pharmacological activation of autophagy in tauopathy neurons. – Text: direct // Nature communications. – 2020. – № 11 (1). – A. 3258.
228. Singh R., Kaushik S., Wang Y. [et al.] Autophagy regulates lipid metabolism. – Text: direct // Nature. – 2009. – № 458 (7242). – P. 1131-1135.
229. Spadaro O., Youm Y., Shchukina I. [et al.] Caloric restriction in humans reveals immunometabolic regulators of health span. – Text: direct // Science. – 2022. – № 375 (6581). – P. 671-677.
230. Spencer B., Potkar R., Trejo M. [et al.] Beclin 1 gene transfer activates autophagy and ameliorates the neurodegenerative pathology in alpha-synuclein models of Parkinson's and Lewy body diseases. – Text: direct // The journal of neuroscience. – 2009. – № 29 (43). – P. 13578-13588.
231. Stamatakou E., Wrobel L., Hill S. M. [et al.] Mendelian neurodegenerative disease genes involved in autophagy. – Text: direct // Cell discovery. – 2020. – № 6 (1). – A. 24.
232. Strohecker A. M. Targeting mitochondrial metabolism by inhibiting autophagy in BRAF-driven cancers / Strohecker A. M., White E. – Text: direct // Cancer discovery. – 2014. – № 4 (7). – P. 766-772.
233. Suleiman J., Allingham-Hawkins D., Hashem M. [et al.] WDR45B-related intellectual disability, spastic quadriplegia, epilepsy, and cerebral hypoplasia: a consistent neurodevelopmental syndrome. – Text: direct // Clinical genetics. – 2018. – № 93(2). – P. 360-364.
234. Sun T., Li X., Zhang P. [et al.] Acetylation of Beclin 1 inhibits autophagosome maturation and promotes tumour growth. – Text: direct // Nature communications. – 2015. – № 6. – P. 7215.
235. Tang H., Sebti S., Titone R. [et al.] Decreased BECN1 mRNA expression in human breast cancer is associated with estrogen receptor-negative subtypes and poor prognosis. – Text: direct // EBioMedicine. – 2015. – № 2 (3). – P. 255-263.
236. Thangaraj A., Sil S., Tripathi A. [et al.] Targeting endoplasmic reticulum stress and autophagy as therapeutic approaches for neurological disease. – Text: direct // International review of cell and molecular biology. – 2020. – № 350. – P. 285-325.

237. Tsuboi K., Nishitani M., Takakura A. [et al.] Autophagy protects against colitis by the maintenance of normal gut microflora and secretion of mucus. – Text: direct // The journal of biological chemistry. – 2015. – № 290 (33). – P. 20511-20526.
238. Ueno T. Autophagy in the liver: functions in health and disease / Ueno T., Komatsu M. – Text: direct // Nature reviews gastroenterology & hepatology. – 2017. – № 14. – P. 170-184.
239. Vanzo R., Bartkova J., Merchut-Maya J. M. [et al.] Autophagy role(s) in response to oncogenes and DNA replication stress. – Text: direct // Cell death and differentiation. – 2020. – № 27 (3). – P. 1134-1153.
240. Villareal D. T., Fontana L., Das S. K. [et al.] Effect of two-year caloric restriction on bone metabolism and bone mineral density in non-obese younger adults: a randomized clinical trial. – Text: direct // The journal of bone and mineral research. – 2016. – № 31 (1). – P. 40-51.
241. Vitton V., Damon H., Benezech A. [et al.] Clinical practice guidelines from the French National Society of Coloproctology in treating chronic constipation. – Text: direct // Eur J Gastroenterol Hepatol. – 2018. – № 30 (4). – P. 357-363.
242. Walker A. K., Yang F., Jiang K. [et al.] Conserved role of SIRT1 orthologs in fasting-dependent inhibition of the lipid/cholesterol regulator SREBP. – Text: direct // Genes and development. – 2010. – № 24 (13). – P. 1403-1417.
243. Wan R. Intermittent fasting and dietary supplementation with 2-deoxy-D-glucose improve functional and metabolic cardiovascular risk factors in rats / Wan R., Camandola S., Mattson M. P. – Text: direct // FASEB journal. – 2003. – № 17 (9). – P. 1133-1134.
244. Wang T., Zhang X., Wang Y. [et al.] High cholesterol and 27-hydroxycholesterol contribute to phosphorylation of tau protein by impairing autophagy causing learning and memory impairment in C57BL/6J mice. – Text: direct // J Nutr Biochem. – 2022. – № 106 (109016).
245. Webb J. L., Ravikumar B., Atkins J. [et al.] Alpha-Synuclein is degraded by both autophagy and the proteasome. – Text: direct // The journal of biological chemistry. – 2003. – № 278 (27). – P. 25009-25013.

246. Weidberg H. Lipophagy: selective catabolism designed for lipids / Weidberg H., Shvets E., Elazar Z. – Text: direct // Development cell. – 2009. – № 16 (5). – P. 628-630.
247. Wible D. J., Chao H. P., Tang D. G. [et al.] ATG5 cancer mutations and alternative mRNA splicing reveal a conjugation switch that regulates ATG12-ATG5-ATG16L1 complex assembly and autophagy. – Text: direct // Cell discovery. – 2019. – № 5 (1). – P. 42.
248. Wohlgemuth S. E., Seo A. Y., Marzetti E. [et al.] Skeletal muscle autophagy and apoptosis during aging: effects of calorie restriction and life-long exercise. – Text: direct // Experimental gerontology. – 2010. – № 45 (2). – P. 138-148.
249. Xu C., Cai Y., Fan P. [et al] Calorie Restriction Prevents Metabolic Aging Caused by Abnormal SIRT1 Function in Adipose Tissue. – Text: direct // Diabetes. – 2015. – № 64 (5). – P. 1576-1590.
250. Yang L., Li P., Fu S. [et al.] Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. – Text: direct // Cell metabolism. – 2010. – № 11 (6). – P. 467-478.
251. Yang L., Licastro D., Cava E. [et al.] Long-term calorie restriction enhances cellular quality-control processes in human skeletal muscle. – Text: direct // Cell reports. – 2016. – № 14 (3). – P. 422-428.
252. Yang L., Liu C., Zhao W. [et al.] Impaired autophagy in intestinal epithelial cells alters gut microbiota and host immune responses. – Text: direct // Applied and environmental microbiology. – 2018. – № 84 (18). – P. 880-918.
253. Yao Z. Q., Zhang X., Zhen Y. [et al.] A novel small-molecule activator of Sirtuin-1 induces autophagic cell death/mitophagy as a potential therapeutic strategy in glioblastoma. – Text: direct // Cell Death Dis. – 2018. – № 9 (7). – P. 767.
254. Yates A. Transanal irrigation: is it the magic intervention for bowel management in individuals with bowel dysfunction? / Yates A. – Text: direct // Br J Nurs. – 2020. – № 29 (7). – P. 393-398.
255. Yoshii S., Kuma A., Akashi T. [et al.] Systemic analysis of Atg5-null mice rescued from neonatal lethality by transgenic ATG5 expression in neurons. – Text: direct // Developmental cell. – 2016. – № 39 (1). – P.116-130.

256. Yu L., McPhee C. K., Zheng L. [et al.] Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. – Text: direct // Nature. – 2010. – № 465. – P. 942-946.
257. Zaffagnini G. Mechanisms of Selective Autophagy / Zaffagnini G., Martens S.. – Text: direct // Journal of molecular biology. – 2016. – № 428 (9). – P. 714-1724.
258. Zeng C., Mulas F., Sui Y. [et al.] Pseudotemporal Ordering of Single Cells Reveals Metabolic Control of Postnatal  $\beta$  Cell Proliferation. – Text: direct // Cell Metabolism. – 2017. – Vol. 25 (5). – P. 1160-1175.
259. Zhang C., Yan J., Xiao Y. [et al.] Inhibition of autophagic degradation process contributes to claudin-2 expression increase and epithelial tight junction dysfunction in tnf- $\alpha$  treated cell monolayers. – Text: direct // International journal of molecular sciences. – 2017. – № 18 (1). – P. 157.
260. Zimmermann A., Kainz K., Andryushkova A. [et al.] Autophagy: one more Nobel Prize for years. – Text: direct // Microbial cell. – 2016. – № 3 (12). – P. 579-581.