

*На правах рукописи*

**СМИРНОВА**  
Татьяна Юрьевна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ,  
АССОЦИИРОВАННЫЕ С АКТИВНЫМ ДОЛГОЛЕТИЕМ**

03.03.04.

Клеточная биология, цитология, гистология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург  
2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт цитологии Российской академии наук

**Научный руководитель:**

кандидат биологических наук, доцент  
**Спивак Ирина Михайловна**  
Институт цитологии РАН

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор  
**Шавловский Михаил Михайлович**  
ФГБУ «НИИ экспериментальной  
медицины» СЗО РАМН

доктор медицинских наук, профессор  
**Имянитов Евгений Наумович**  
ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н.  
Петрова» Минздравсоцразвития России

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное  
бюджетное учреждение науки Институт  
биологии Коми научного центра  
Уральского отделения РАН

Защита диссертации состоится «8» июня 2012 года в 13 часов на заседании Диссертационного совета Д.002.230.01 на базе Института цитологии РАН по адресу: 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, д. 4  
Адрес электронной почты института: [cellbio@mail.cytspb.rssi.ru](mailto:cellbio@mail.cytspb.rssi.ru)  
Сайт: <http://www.cytspb.rssi.ru>  
Факс: 8(812) 297-35-41

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института цитологии РАН.

Автореферат разослан «05» мая 2012 года

Ученый секретарь Диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Е.В.Каминская

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** В течение последних 160 лет ожидаемая продолжительность жизни в экономически развитых странах постоянно увеличивалась со средней скоростью 3 месяца в год. Связанное с этим феноменом существенное увеличение в структуре населения экономически развитых и развивающихся стран доли пожилых вызвало закономерное и значительное увеличение интереса к геронтологии и, прежде всего, к изучению первичных механизмов старения организмов и факторов, определяющих продолжительность жизни (Анисимов, 2003).

В настоящее время обнаружено, что многие сердечно-сосудистые заболевания, являющиеся основной причиной смертности, имеют генетическую компоненту. В 1992 году появились первые доказательства участия инсерционно-делеционного полиморфизма (I/D) гена ангиотензин-превращающего фермента (ACE) – ключевого белка ренин-ангиотензиновой системы - в формировании наследственной предрасположенности к инфаркту миокарда у лиц с отсутствием классических факторов риска развития ишемической болезни сердца (Cambien et al., 1992). Результаты большинства исследований показали положительную связь между генотипом DD и повышенным риском инфаркта миокарда. ACE синтезируется в различных тканях организма, включая центральную нервную систему, и участвует не только в регуляции артериального давления, но и во многих других физиологических процессах, таких как обмен нейропептидов, регуляция репродукции, защитные и иммунные реакции. Была выявлена важная роль ACE в развитии различных психотических состояний (Hishimoto et al., 2006) и невротизации при реакции на стресс (Спивак и др., 2006), что доказало наличие общей генетической базы психических расстройств и сердечно-сосудистых заболеваний. С другой стороны, в клинической практике начала XXI века было достоверно показано, что депрессия увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний, а у пациентов с психическими расстройствами в течение жизни развивается значительно большее число соматических заболеваний, чем вообще в популяции (Neeleman et al., 2001). Таким образом, исследования генетической предрасположенности к психическим расстройствам также могут послужить ключом и к пониманию соматического страдания. Это мутации и полиморфизм генов, вовлеченных в тонкие молекулярные процессы функционирования нейронов и глиальных клеток, в частности, гены серотониновой нейромедиаторной системы, регулирующей такие основные биологические процессы, как сон, аппетит, суточный ритм и когнитивные функции. Среди них особое внимание уделяется изучению генов серотонинового рецептора HTR2A и серотонинового транспортера 5-НТТ (SLC6A4). Для 102Т>С полиморфизма гена HTR2A и инсерционно-делеционного полиморфизма гена 5-НТТ показана ассоциация со многими психическими расстройствами, суицидальными тенденциями, нейродегенеративными заболеваниями (Bondy,

2007), а также с долгожительством (Jobim et al., 2008). Современные эксперименты доказали справедливость теломерной теории старения, связав продолжительность жизни с длиной теломер и развитием возрастной патологии (Hoen et al., 2011; von Zglinski, Martin-Ruiz, 2005). Была выявлена непосредственная связь укорочения теломер с постоянным повышенным уровнем окислительного стресса при сердечно-сосудистой патологии (Demissie et al., 2006), почечной недостаточности (Ramirez, 2005), различных формах рака (Broberg et al., 2005). Появилось также существенное количество работ, показывающих ускоренное укорочение теломер в условиях длительного психологического стресса (Epel et al., 2004, 2008). Теломерная теория предстает в совершенно новом свете, объясняя механизм влияния психологического состояния человека и устойчивости к стрессам на процесс старения.

Таким образом, длина теломер в лимфоцитах и полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой и серотониновой систем могут быть одними из показателей устойчивости к стрессам и способности к активной адаптации на молекулярном и клеточном уровне, а, следовательно, и предрасположенности к долгожительству.

#### **Цель и задачи исследования:**

Цель настоящей работы заключалась в выявлении коррелятов активного долголетия на молекулярно-генетическом и клеточном уровнях.

Задачи:

1. Определить инсерционно-делеционный полиморфизм генов ACE и НТТ и 102Т>С полиморфизм гена НТR2А у пожилых респондентов Северо-Запада России.

2. Определить инсерционно-делеционный полиморфизм генов ACE и НТТ и 102Т>С полиморфизм гена НТR2А у представителей популяции Северо-Запада России и сравнить полученные результаты с распределением вариантов данных генов у пожилых респондентов Северо-Запада РФ и в популяциях других стран.

3. Измерить длину теломер в лимфоцитах периферической крови у пожилых респондентов северо-западного региона России.

4. Измерить длину теломер в лимфоцитах периферической крови у представителей популяции Северо-Запада России.

5. Сопоставить результаты молекулярно-генетического исследования с данными анамнеза и психологическими характеристиками пожилых респондентов методом факторного анализа.

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

1. Распределение генотипов по генам ангиотензин-превращающего фермента ACE, серотонинового транспортера 5-НТТ и рецептора серотонина НТR2А в популяции Северо-Запада РФ близко к величинам, характерным для стран Западной Европы, и статистически значимо отличается от такового в популяциях Японии, Китая и США

2. Генотип А2А2 по гену HTR2A сопутствует активному долголетию в популяции Северо-Запада РФ

3. Долгожители мужского пола достоверно чаще несут инсерционные варианты генов ACE и 5-НТТ, II и LL соответственно

4. Имеется сильная коррелятивная связь между коротким (S) аллелем гена 5-НТТ и вероятностью наличия у пожилых респондентов выраженного психического заболевания

5. Длина теломер начинает четко коррелировать с возрастом только в старших возрастных группах

#### **Научная новизна полученных результатов.**

Первые показано принципиальное различие в распределении генотипов по гену рецептора серотонина HTR2A в популяции Северо-Запада России и других стран. Обнаружена корреляция между аллелем А2 гена HTR2A, психологическими резервами личности и продолжительностью жизни в популяции Северо-Запада РФ. На материале старших возрастных групп и долгожителей в популяции РФ показано уменьшение длины теломер с возрастом.

**Теоретическое и практическое значение работы.** Генотипы II по гену ACE, А1А1 по гену HTR2A и LL по гену 5-НТТ чаще встречаются у мужчин старшей возрастной группы, чем у женщин, что выявляет у них большую зависимость долголетия от генотипа. Корреляция длин теломер с возрастом у лиц старшей возрастной группы и долгожителей позволяет оценить вклад молекулярных механизмов укорочения теломер в достижении активного долголетия. Показана эффективность использования факторного анализа, позволяющего сравнивать множество разнородных данных для выявления связи между генетическими (полиморфизм генов ACE, HTR2A и 5-НТТ), молекулярными (длина теломер), психологическими показателями и данными медицинского анамнеза. Выявление генетических, молекулярных и психологических особенностей будет способствовать улучшению качества жизни пациентов за счет оценки рисков и своевременного и адекватного назначения терапии возраст-зависимых заболеваний.

**Апробация работы.** Основные положения работы представлены на XIII Международной Пушинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука 21 века» (Пушино, 2009), VI научно-практической геронтологической конференции с международным участием «Пушковские чтения» (Санкт-Петербург, 2010), Российской научно-практической конференции «Терапевтические проблемы пожилого человека» (Санкт-Петербург, 2010), Международной конференции «Генетика продолжительности жизни и старения» (Сыктывкар, 2010), VI и VII Международных междисциплинарных конгрессах «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2020, 2011), 36-м конгрессе Европейской Федерации биохимических обществ (Турин, 2011) и III Конференции

молодых ученых Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, 2012). По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, в том числе 5 статей (4 в рецензируемых журналах).

**Вклад автора.** Измерение длины теломер лимфоцитов периферической крови пожилых респондентов осуществлялось совместно с А.Л. Руновым в Лаборатории структурной организации генома (ИНЦ РАН) под руководством к.б.н. М.С. Вонского. Лично автором произведена экстракция ДНК и генетический анализ всех исследуемых образцов в Лаборатории радиационной цитологии (ИНЦ РАН) под руководством к.б.н., доц. И.М. Спивак. Также автором измерены длины теломер лимфоцитов периферической и пуповинной крови у контрольной группы респондентов на базе Покровского банка стволовых клеток под руководством д.м.н., проф. А.Б. Смолянинова. Лично автором проведена статистическая обработка полученных результатов при активном содействии д.ф.н. Д.Л.Спивака. Материалы, вошедшие в данную работу, обсуждались и публиковались совместно с соавторами и научным руководителем диссертации.

**Финансовая поддержка работы.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 09-06-00012а 2009-2011 гг. и 11-04-09449-моб\_з), программы Президиума РАН «Биологические науки – медицине» 2008-2011 гг., а также Правительства Санкт-Петербурга (гранты для студентов, аспирантов вузов и академических институтов 2010).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 165 страницах и иллюстрирована 34 рисунками и 9 таблицами. Обзор литературы включает 427 ссылок.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Характеристика групп.** В исследуемую группу пожилых респондентов, состоящую из 245 человек (58 мужчин, 187 женщин), вошли пациенты Санкт-Петербургского городского гериатрического центра в возрасте от 60 лет до 101 года (средний возраст  $79,75 \pm 1,2$  года). Группу популяционного контроля составили пациенты Покровского банка стволовых клеток в возрасте от 2 до 87 лет без выраженной патологии в анамнезе (163 респондента), в том числе, спортсмены от 13 до 53 лет (49 человек), образцы регистра пуповинной крови от 276 доноров, студенты С.-Петербургского государственного университета (112 человек) и пациенты Родильного дома №1 г. С.-Петербурга (40 женщин в возрасте от 18 до 46 лет).

**Исследование генетического полиморфизма.** I/D полиморфизм в гене ACE определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием трехпраймерной системы (СибЭнзим, Новосибирск): 5'-cat tcc ttt ctc cca ttt ctc-3' (FH76), 5'-tgg gat tac agg cgt gat aca g-3' (FH77) и 5'-att

tca gag ctg gaa taa aat t-3' (FH78). В результате амплификации получали фрагменты длиной 84 п.н. (D-аллель), 65 и 300 п.н. (I-аллель). Для анализа I/D полиморфизма гена серотонинового транспортера использовали праймеры 5'-ggc gtt gcc gct ctg aat gcc-3' и 5'-cag ggg aga tcc tgg gag agg t-3' (СибЭнзим, Новосибирск). Длины амплифицированных фрагментов были равны 265 п.н. и 221 п.н. для аллелей L и S соответственно. Определение 102T>C полиморфизма гена серотонинового рецептора проводили методом ПЦР с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов. Последовательность праймеров: 5'-tct gct aca agt tct ggc tt-3' и 5'-ctg cag ctt ttt ctc tag gg-3' (СибЭнзим, Новосибирск). После амплификации реакционную смесь обрабатывали эндонуклеазой рестрикции MspI (СибЭнзим, Новосибирск) в течение 12 ч при 37 °С. Фрагменты, полученные после обработки нуклеазой, имели следующие длины: 342 п.н. (A1-аллель), 126 и 216 п.н. (A2-аллель).

**Измерение длины теломер методом проточной цитофлуориметрии (Flow-FISH).** Анализ проводили с использованием набора DAKO Telomere PNA Kit/FITC for Flow Cytometry (DAKO, Дания) согласно инструкции. В качестве внешнего контроля использовали специальную клеточную линию Т-лимфобластной лейкемии 1301 (HPA Culture Collections, Великобритания), которая характеризуется стабильной длиной теломер (Hultdin, 1998). Данную культуру поддерживали в среде RPMI с добавлением 10% бычьей сыворотки, 2 mM L-глутамина и пенициллин/стрептомицина 100 мкг/мл (HyClone, США). Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США) с длиной волны 488 нм. Для выделения клеток на стадии клеточного цикла G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> использовали логарифмическую шкалу FL3. Относительную длину теломер (ОДТ) образца в процентах от длины теломер контрольной линии 1301 с учетом их тетраплоидности высчитывали следующим образом:  $ОДТ = \frac{(П - A)_{образец}}{(П - A)_{1301}} * (2 * 100)$ ,

где (П - А) – разница между средней интенсивностью флуоресценции по FL1 пробы с зондом и без зонда (автофлуоресценция).

**Анализ длины теломер методом количественной ПЦР (Real-time PCR).** Измерение длины теломер в лимфоцитарной фракции периферической крови проводили по взятому из литературы оригинальному протоколу (Sawthon, 2002). Среднюю длину теломер в пробе (в т.п.н.) рассчитывали согласно методике (O'Callaghan et al., 2008), используя разведения калибратора — 84-членного синтетического олигонуклеотида, состоящего из теломерных повторов TTAGGG. Расчёт средней длины теломер на геном проводили посредством нормировки числа копий теломерных повторов на число копий гена рибосомного фосфопротеина PO 36B4 (T/S), представленного в клетке в единичной копии. Для амплификации данного гена использовали праймеры: 36B4u – 5'-cag caa gtg gga agg tgt aat cc-3'; 36B4d – 5'-ccc att cta tca tca acg ggt aca a-3'.

**Статистическая обработка результатов.** Анализ полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA v.7.0 (Statsoft, США) и MS Excel 2007 (Microsoft, США). Для определения достоверности различий между сравниваемыми группами по частотам генотипов и аллелей исследуемых генов применяли стандартный критерий  $\chi^2$  Пирсона. Значение  $p < 0,05$  было принято как статистически значимое. Сопоставление результатов анализа длин теломер с данными анамнеза по материалам истории болезни, результатами психологического тестирования и генетического обследования проводили факторным анализом всех наблюдавшихся переменных с использованием ортогонального вращения матрицы нагрузок Varimax normalized, метод выделения факторов - главные компоненты.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Определение полиморфизма генов

**ACE.** Результаты определения I/D полиморфизма гена ACE у пожилых респондентов и у представителей популяции Северо-Запада России и литературные данные по другим популяциям представлены в табл. 1, в которой видно, что значения частот аллелей I и D данного гена в северо-западном регионе РФ близки к величинам, характерным для стран Западной Европы и США, и резко отличаются от таковых в Японии ( $p < 0,01$ ).

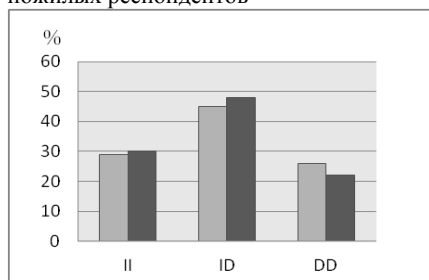
**Табл. 1.** Распределение генотипов II, ID и DD по гену ACE у пожилых респондентов, у представителей популяции Северо-Запада России и популяций других стран

Популяции	Частота генотипов по гену ACE, %			Критерий Пирсона (df=2)*	
	II	ID	DD		
Пожилые респонденты (n=245) (Смирнова и др., 2011)	28,2	47,3	24,5		
Северо-Запад России (n=112) (Спивак и др., 2006)	23,2	52,7	24,1		
Германия (n=719) (Mondry et al., 2005)	23,6	49,6	26,8	$\chi^2 = 0,48$ ; $p > 0,05$	
Дания (n=4022) (Agerholm-Larsen et al., 1997)	27,0	49,2	23,8	$\chi^2 = 0,85$ ; $p > 0,05$	
США	Афроамериканцы (n=185) (Dilley et al., 1997)	17,3	54,6	28,1	$\chi^2 = 1,72$ ; $p > 0,05$
	Европеоиды (n=201) (Douglas et al., 2004)	21,0	47,0	32,0	$\chi^2 = 2,09$ ; $p > 0,05$
Япония (n=1245) (Matsubara et al., 2002)	45,0	45,0	10,0	$\chi^2 = 30,10$ ; $p < 0,05$	

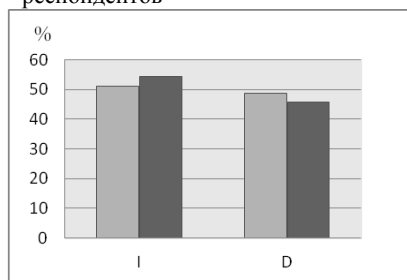
\*Примечание: значение критерия  $\chi^2$  рассчитано для определения достоверности различий по частотам распределения вариантов исследуемого гена между данной популяцией и популяцией Северо-Запада РФ.



**Рис. 1.** Гендерное распределение генотипов II, ID и DD по гену ACE у пожилых респондентов

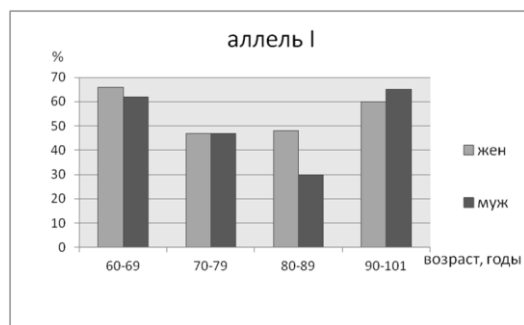


**Рис. 2.** Гендерное распределение аллелей I и D гена ACE у пожилых респондентов



■ Женщины ■ Мужчины

При сравнении частот аллелей I и D гена ACE у пожилых респондентов с частотами данных аллелей в популяции Северо-Запада России статистически значимых различий обнаружено не было ( $\chi^2 = 1,2$ ;  $df = 2$ ;  $p > 0,05$ ), как и не было обнаружено гендерных различий в распределении частот генотипов (рис. 1) и аллелей (рис. 2) гена ACE среди лиц пожилого возраста. Тем не менее, при анализе распределения частот аллелей в различных возрастных группах пожилых респондентов мы видим преобладание частоты аллеля I по сравнению с аллелем D в возрастной группе от 60 до 70 лет. С увеличением возраста происходит выравнивание частот и даже смещение в сторону аллеля D (70 – 90 лет), и снова рост встречаемости аллеля I в самых старших возрастных группах, преодолевших рубеж в 90 лет (рис. 3). Более четко эта закономерность прослеживается у лиц мужского пола. Это может служить основой для утверждения, что для мужчин роль аллеля I как возможной генетической базы долголетия выше, чем у женщин.



**Рис. 3.** Распределение частоты аллеля I гена ACE в возрастных группах пожилых респондентов Северо-Запада России

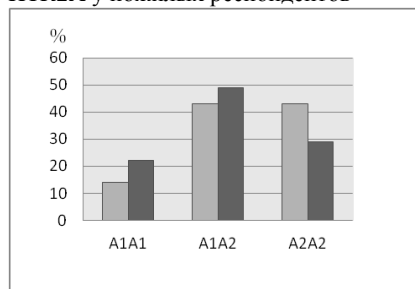
**Ген серотонинового рецептора HTR2A.** При изучении 102T>C полиморфизма гена HTR2A также не было обнаружено статистически значимых различий между группой пожилых респондентов и популяцией Северо-Запада РФ ( $\chi^2 = 0,95$ ;  $df = 2$ ;  $p > 0,05$ ) (Табл. 2).

**Табл. 2.** Распределение полиморфизма 102Т>С гена HTR2A в популяциях Северо-Запада РФ и других стран и у пожилых респондентов Северо-Запада России

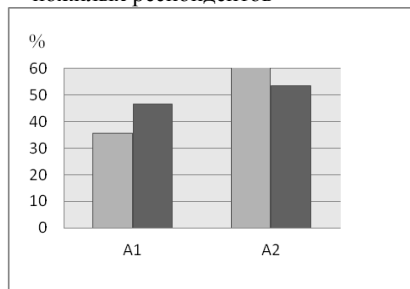
Популяции	Частота генотипов по гену HTR2A, %			Критерий Пирсона (df=2)*
	A1A1	A1A2	A2A2	
Пожилые респонденты (n=230) (Смирнова и др., 2011)	18,7	42,6	38,7	
Северо-Запад России (n=39) (Смирнова и др., 2011)	15,4	48,7	35,9	
Центральная Россия (n=500) (Golimbet et al., 2007)	20,2	44,0	35,8	$\chi^2 = 0,60$ ; $p > 0,05$
Германия (n=125) (Bondy et al., 2000)	21,6	46,4	32,0	$\chi^2 = 0,74$ ; $p > 0,05$
США, Европеиды (n = 63) (Khait et al., 2005)	31,7	46,0	22,3	$\chi^2 = 6,53$ ; $p < 0,05$
Китай (n=307), % (Zhang et al., 2004)	32,3	45,6	22,1	$\chi^2 = 6,08$ ; $p < 0,05$
Япония (n=802) (Kishi et al., 2008)	27,4	48,1	24,5	$\chi^2 = 3,97$ ; $p > 0,05$
Финляндия (n=392) (Anttila et al., 2007)	11,3	45,6	43,1	$\chi^2 = 1,04$ ; $p > 0,05$
Швеция (n=1028) (Kling et al., 2008)	15,5	46,0	38,5	$\chi^2 = 0,13$ ; $p > 0,05$
Бразилия (n=202) (Meira-Lima et al., 2004)	27,7	47,5	24,8	$\chi^2 = 3,47$ ; $p > 0,05$

\*Примечание: значение критерия  $\chi^2$  рассчитано для определения достоверности различий по частотам распределения вариантов исследуемого гена между данной популяцией и популяцией Северо-Запада РФ.

**Рис. 4.** Гендерное распределение генотипов A1A1, A1A2 и A2A2 по гену HTR2A у пожилых респондентов



**Рис. 5.** Гендерное распределение аллелей A1 и A2 гена HTR2A у пожилых респондентов



■ Женщины ■ Мужчины

Значимые различия ( $p < 0,05$ ) обнаружены при сравнении частот встречаемости генотипов A1A1, A1A2 и A2A2 в популяции северо-западного региона России с таковыми в популяциях США (Европеоидная раса) и Китая. Популяционные различия, наблюдающиеся при анализе частот встречаемости описываемых аллелей, являются крайне интересными для понимания становления генофонда в том или ином регионе и формирования подходов к терапии различных, в том числе возраст-ассоциированных, заболеваний.

Сравнивая распределения частот аллелей A1 и A2 гена HTR2A в группах пожилых респондентов мужского и женского пола (рис. 4, рис. 5), мы видим существенное преобладание частоты аллеля A2 у женщин по сравнению с мужчинами ( $\chi^2 = 3,6$ ;  $df = 2$ ;  $p \leq 0,1$ ). Такие гендерные различия показывают важную роль аллеля A1 гена HTR2A в достижении долголетия у лиц мужского пола (Смирнова и др., 2011).

### Ген серотонинового транспортера 5-НТТ.

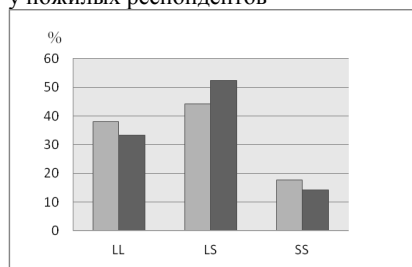
**Табл. 3.** Частоты генотипов по гену 5-НТТ в разных популяциях и у пожилых респондентов Северо-Запада России

Популяции	Частота генотипов по гену 5-НТТ, %			Критерий Пирсона (df=2)
	LL	LS	SS	
Пожилые респонденты (n=245) (Смирнова и др., 2012а)	37,1	45,8	17,1	
Северо-Запад России (n=184) (Смирнова и др., 2012а)	38,6	43,5	17,9	
Центральная Россия (n=524) (Голимбет и др., 2009)	38,7	44,6	16,7	$\chi^2 = 0,21$ ; $p > 0,05$
Германия (n=315) (Herman et al., 2003)	34,3	49,2	16,5	$\chi^2 = 0,70$ ; $p > 0,05$
США, Европеиды (n=241) (Heyer et al., 2008)	32,9	48,3	18,8	$\chi^2 = 1,03$ ; $p > 0,05$
Афроамериканцы (n=132) (Roy et al., 2007)	56,8	37,1	6,1	$\chi^2 = 16,97$ ; $p < 0,05$
Финляндия (n=3872) (Munafò et al., 2009)	34,9	48,0	17,1	$\chi^2 = 0,59$ ; $p > 0,05$
Китай (n=103) (Chong et al., 2000)	12,6	31,1	56,3	$\chi^2 = 57,06$ ; $p < 0,05$
Япония (n=243) (Katsuyama et al., 2008)	5,8	31,7	62,5	$\chi^2 = 125,31$ ; $p < 0,05$
Бразилия (n=201) (Meira-Lima et al., 2004)	36,8	51,2	12,0	$\chi^2 = 2,72$ ; $p > 0,05$

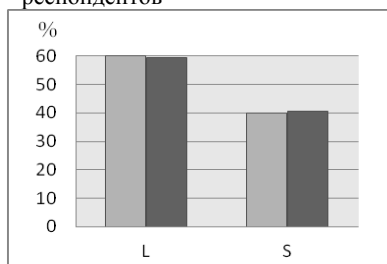
При исследовании полиморфизма гена серотонинового транспортера 5-НТТ у пожилых респондентов, у представителей популяции Северо-Запада РФ и при сравнении этих результатов с литературными данными, описывающими другие популяции, нами было показано, что частоты генотипов по гену 5-НТТ (LL, LS, SS) практически не различаются во всех изученных группах стран Европы, но достоверно отличаются от таковых в Бразилии, Китае, Японии и у афроамериканцев США. Данные приведены в табл. 3.

Гендерных различий у пожилых респондентов Северо-Запада РФ в распределении частот генотипов по гену 5-НТТ также выявлено не было. Повышение частоты генотипа SS у женщин (17,7%) по сравнению с мужчинами (14,3%) или частоты генотипа LS у мужчин (54,4%) по сравнению с женщинами (44,3%) статистически недостоверно ( $p > 0,05$ ). Данные представлены на рис. 6 и 7.

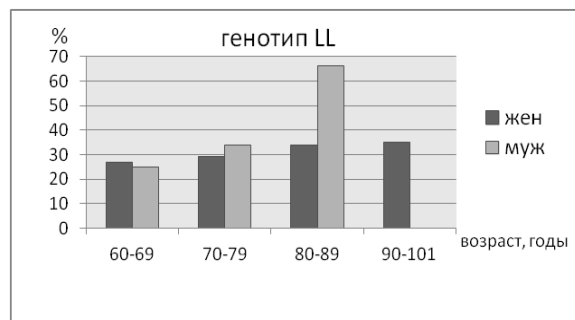
**Рис. 6.** Гендерное распределение LL, LS и SS генотипов 5-НТТ у пожилых респондентов



**Рис. 7.** Гендерное распределение аллелей L и S гена 5-НТТ у пожилых респондентов



■ Женщины    ■ Мужчины



**Рис. 8.** Частота генотипа LL по гену 5-НТТ в возрастных группах пожилых респондентов Северо-Запада России.

При сравнении частот генотипа LL в разных возрастных группах пожилых респондентов мы видим резкое увеличение частоты данного генотипа, часто выявляемого у спортсменов, среди мужчин возрастной группы 80-89 лет, как показано на рис. 8. Это говорит о том, что, как и при

изучении ACE и HTR2A, респонденты мужского пола достоверно чаще несут L вариант гена серотонинового транспортера. Впрочем, в самой старшей группе от 90 до 101 года мужчин-респондентов в данном исследовании не оказалось, что, к сожалению, не позволяет сделать более четкий и надежный вывод о роли генотипа LL в достижении активного долголетия.

**Факторный анализ результатов генетического исследования, психологического тестирования и данных анамнеза лиц пожилого возраста.** Все полученные нами результаты (данные генотипирования, анамнеза, психологического тестирования) были обработаны методом факторного анализа, позволяющего обнаружить связь одновременно между несколькими разными признаками. Так как анализируемая нами база данных очень велика, то в некоторых случаях мы проводим ее частичный анализ – например, генетика и анамнез, генетика и результаты психологического тестирования, и т.п., что позволяет выявить более сильные корреляционные зависимости.

В табл. 4 представлены результаты факторного анализа данных генотипирования (генов ACE и HTR2A) с данными анамнеза из материалов историй болезни, для чего различным генотипам были присвоены следующие значения: II – 3; ID – 2; DD – 1 (для ACE), A1A1 – 3, A1A2 – 2, A2A2 – 1 (для HTR2A). Это позволило провести корректную математическую обработку всех наблюдавшихся переменных. Полученные данные могут быть интерпретированы следующим образом: определяющей для фактора 1 является высоко достоверная связь между выраженными хроническими сердечно-сосудистыми заболеваниями и остальными хроническими заболеваниями респондентов. Будучи вполне предсказуемым, данный результат является косвенным подтверждением других наших, менее тривиальных, результатов. При этом не выявлена связь полиморфизма ACE с сердечно-сосудистыми заболеваниями, как это можно было предположить, опираясь на данные литературы. В то же время делеционный (D) аллель ACE и диабет сформировали фактор 3. Этот результат представляется крайне интересным и нуждается в дальнейшем исследовании. Предварительно можно высказать предположение о том, что люди с серьезной генетической предрасположенностью к сердечно-сосудистой патологии редко оказываются в группе активных долгожителей, а диабет, особенно 2 типа является классическим возрастным заболеванием, также связанным с регуляцией сосудистого тонуса. Пол, возраст респондентов и ген HTR2A попали в один фактор (фактор 2) с разными знаками, что указывает на то, что большая часть пожилой популяции – женщины, при этом с повышенной частотой встречаемости аллеля A2 гена HTR2A. Как известно, носители аллеля A2 чаще страдают различными психическими расстройствами и маниями (Vaquero et al., 2006; Inada et al., 2003). При этом в последние годы накапливаются данные о том, что многие гены, вовлеченные в патогенез маниакально-депрессивного психоза, шизофрении и депрессии, могут быть

связаны с повышенной творческой активностью, что, вероятно, и способствует их сохранению на высоком (более 1% - 1,5%) уровне в популяции. Роль этих генов в развитии головного мозга во время эволюции человека активно дискутируется (Simeonova et al., 2005). Таким образом, можно предположить, что аллель A2 сопутствует активному долголетию не случайно.

**Табл. 4.** Результаты факторного анализа генетических (гены ACE и HTR2A) и медицинских данных пожилых респондентов

Признаки	Факторные нагрузки (Varimax normalized, Extraction: Principal components)		
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Возраст	0,22	<b><u>0,70</u></b>	0,03
Пол	0,18	<b><u>-0,79</u></b>	0,02
Инфаркт, инсульт	0,48	0,17	-0,37
Хронические сердечно-сосудистые заболевания	<b><u>0,93</u></b>	-0,08	0,04
Диабет	0,11	0,19	<b><u>0,69</u></b>
Хронические заболевания (все, кроме сердечно-сосудистых)	<b><u>0,90</u></b>	-0,06	-0,02
Психические заболевания	-0,13	-0,27	0,46
ACE (I/D)	0,07	-0,09	<b><u>-0,69</u></b>
HTR2A (102T>C)	-0,01	<b><u>-0,61</u></b>	0,07
Собственное значение фактора	2,02	1,62	1,31
Объясненная дисперсия, (%)	0,22	0,18	0,15

Метод выделения факторов (по столбцам) - главные компоненты, использовано ортогональное вращение матрицы нагрузок Varimax normalized; полужирным шрифтом маркированы факторные нагрузки  $\geq 0,55$ .

Представленные в табл. 4 результаты факторного анализа объясняют в сумме более 55% вариативности, что представляется вполне конструктивным результатом, свидетельствующим в пользу фундаментального характера процессов, лежащих в основе обнаруженных нами факторных зависимостей.

Для математической обработки данных, полученных при генетическом исследовании полиморфизма 5-HTT, с данными анамнеза из материалов историй болезни генотипам были присвоены следующие значения: LL - 3; LS - 2; SS - 1 (Табл. 5).

Выявляется весьма сильная коррелятивная связь между коротким (S) аллелем гена серотонинового транспортера, с одной стороны, и вероятностью наличия у респондента выраженного психического заболевания (а также обычно связанного с таковым факта приема психоактивных препаратов) – с другой (см. фактор 1 табл. 5). Этот результат подтверждает вклад данного

полиморфизма в развитие с возрастом психических заболеваний и состояний, требующих фармакологической коррекции. Другие два фактора данной таблицы сформированы коррелирующими между собой перенесенными и хроническими сердечно-сосудистыми и другими хроническими заболеваниями, что логично (фактор 3). Выпадает только хронический диабет, сформировавший общий фактор 2 с семейным положением. Этот результат, впрочем, также легко объясним, так как существует достаточное количество данных о том, что женатые/замужние люди живут дольше и риск хронических заболеваний у них меньший (Смирнова и др., 2012а).

**Табл. 5.** Результаты факторного анализа генетических (ген 5-HTT) и медицинских данных пожилых респондентов

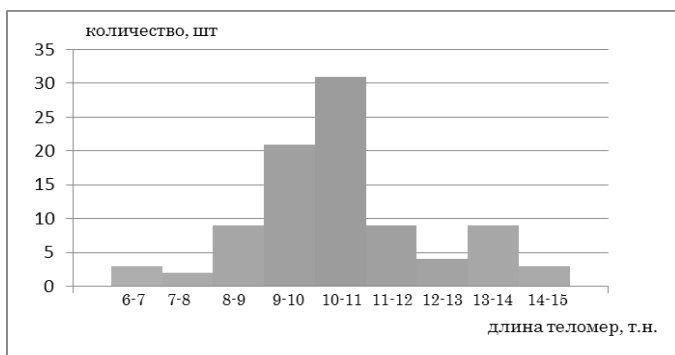
Признак	Факторные нагрузки (Varimax normalized, Extraction: Principal components)		
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Семейное положение	0,20	<b><u>-0,63</u></b>	0,19
Образование	-0,20	0,19	0,50
Инфаркт, инсульт	0,01	-0,03	<b><u>0,67</u></b>
Перенесенные онкологические заболевания	-0,09	0,27	-0,38
Хронические сердечно-сосудистые заболевания	0,55	0,12	<b><u>0,70</u></b>
Хронический диабет	0,15	<b><u>0,65</u></b>	0,34
Прочие хронические заболевания	0,55	0,12	<b><u>0,70</u></b>
Психические заболевания	<b><u>0,87</u></b>	0,11	-0,02
Прием психотропных препаратов	<b><u>0,87</u></b>	0,11	-0,02
Серотониновый транспортер	<b><u>-0,68</u></b>	-0,02	0,01
Собственное значение фактора	3,80	2,80	2,44
Объясненная дисперсия, (%)	0,24	0,19	0,15

Метод выделения факторов (по столбцам) - главные компоненты, использовано ортогональное вращение матрицы нагрузок Varimax normalized; полужирным шрифтом маркированы факторные нагрузки  $\geq 0,55$ .

Полученные данные подтверждают высказанное ранее в литературе представление о том, что серотониновый транспортер играет важную роль в формировании ощущения счастья и удовлетворенности жизнью, что, в свою очередь, способствует большей устойчивости к стрессам и активному долголетию.

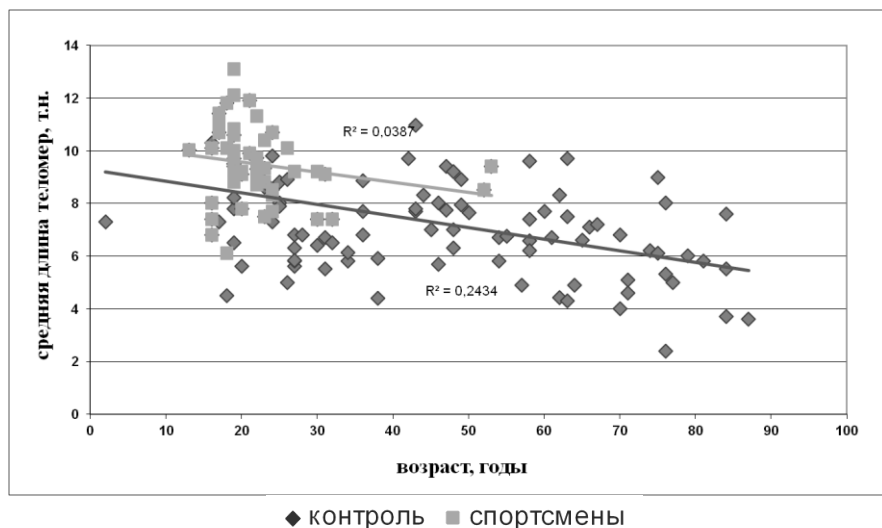
## Измерение длины теломер

В области изучения первичных механизмов старения организмов одним из наиболее широко исследуемых на сегодняшний день потенциальных факторов, определяющих продолжительность жизни, являются концевые участки эукариотических хромосом – теломеры. Укорочение теломер в настоящее время часто рассматривается как механизм нормального или ускоренного старения организма (Allsopp et al., 1992; Михельсон, Гамалей, 2010), в то же время, некоторые авторы не обнаруживают прямой связи возраста обследованных с длинами теломер (Bischoff et al., 2006).



**Рис. 9.** Средняя длина теломер лимфоцитов в образцах пуповинной крови

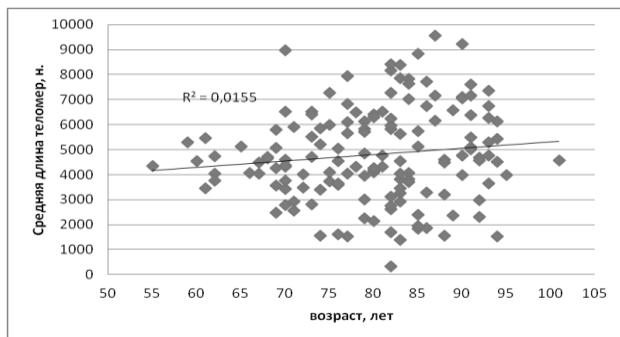
**Рис. 10.** Зависимость средней длины теломер лимфоцитов периферической крови от возраста в популяции Северо-Запада РФ и в группе спортсменов.





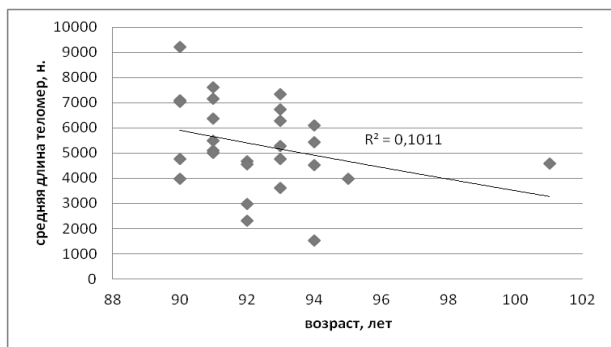
Проведя анализ методом Flow-FISH длин теломер лимфоцитов периферической крови респондентов от 2 до 88 лет и пуповинной крови новорожденных, мы получили большой разброс данных. Уже на момент рождения детей эта величина варьирует от 6 до 15 т.н. (рис. 9).

Этот разброс сохраняется в группе респондентов популяции северо-западного региона РФ разных возрастов, при этом некоторая тенденция корреляции возраста с длинами теломер все-таки наблюдается (рис. 10). Одновременно нами была обследована группа из 49 спортсменов, занимающихся разными видами спорта. При включении в анализ данных этой группы мы видим, что, длины теломер у спортсменов достоверно больше, чем у обычных респондентов. Это можно объяснить тем, что высоких спортивных успехов достигают люди, родившиеся с более длинными теломерами.



**Рис. 11.** Зависимость средней длины теломер лимфоцитов периферической крови пожилых респондентов от возраста.

При сопоставлении всех полученных методом RT-PCR данных по длине теломер периферической крови пожилых респондентов на точечной диаграмме четкой картины, показывающей достоверное укорочение теломер с возрастом, не наблюдается. Разброс данных, представленных на рис. 11, слишком велик. При этом тенденция обратна той, что мы видим на рис. 10. Однако у долгожителей старше 90 лет (рис. 12) обратная связь длин теломер и возраста наконец проявляется достаточно четко.



**Рис. 12.** Зависимость средней длины теломер лимфоцитов периферической крови долгожителей старше 90 лет от возраста.

К настоящему времени накопилось большое количество экспериментальных данных, связывающих ассоциированные с возрастом заболевания как с длиной теломер, так и с полиморфизмом разных генов. Ключевым для развития сердечно-сосудистой патологии традиционно является I/D полиморфизм гена ACE, при этом есть данные об увеличении частоты генотипа II в старших возрастных группах (Глотов и др., 2004). Нами было показано, что у респондентов с наиболее короткими теломерами выявлен генотип II и не выявлен генотип DD (Смирнова и др., 2012б). Эти результаты подтверждают данные о более высокой частоте генотипа II у доноров-долгожителей с более короткими теломерами.

Связь между различными сердечно-сосудистыми заболеваниями и длинами теломер данным методом не определяется. Длины теломер у респондентов, не перенесших инфаркт или инсульт, с возрастом практически не меняются, а у тех, кто эти заболевания перенес, отмечалось лишь незначительное снижение. При этом у донора, перенесшего оба эти заболевания одновременно, длина теломер соответствует среднему показателю для его возраста (Смирнова и др., 2012б).

Данный метод анализа полученных результатов имеет тот недостаток, что мы вынуждены рассматривать их попарно, не учитывая того, что процесс старения является сложным результатом взаимодействия и взаимозависимости множества генетических, экологических и психологических факторов. Поэтому для комплексного сопоставления длин теломер, полиморфизма определенных генов и данных анамнеза мы применили метод факторного анализа. Данные представлены в табл. 6.

Как было уже ранее показано в табл. 5, аллель S гена 5-HTT образовал общий фактор (фактор 1) с наличием у респондентов психического заболевания. В этот же фактор вошел возраст с обратным знаком, что говорит об ассоциации аллеля L с долголетием. Длины теломер вместе с геном серотонинового рецептора и полом респондентов формируют второй фактор, что опять-таки подтверждает полученную нами ранее ассоциацию аллеля A2 гена HTR2A с женским полом, возрастом и длиной теломер (Рис. 5, Табл. 4). В то же время ни один признак не коррелировал с возрастом отца на момент рождения респондента. При этом в литературе имеются данные, связывающие длины теломер у детей с возрастом отца к моменту их зачатия (De Meyer et al., 2007). Третий фактор составили хронические заболевания, как сердечно-сосудистые и диабет, так и другие, причем все они коррелируют с геном ACE, что соответствует литературным данным. В этот же фактор попали образование и семейное положение, что свидетельствует о том, что состоящие в браке и образованные люди больше следят за своим здоровьем и стараются не допустить хронического развития заболевания. В то же время перенесенные сердечно-сосудистые заболевания (инсульт, инфаркт) такой корреляции не выявляют, что говорит о том, что вклад генетики в возникновение хронической патологии гораздо выше, чем при острых состояниях. При этом перенесенные сердечно-сосудистые

заболевания сформировали независимый общий фактор с перенесенными онкологическими заболеваниями, что можно интерпретировать, как существенно большую зависимость этих заболеваний от внешних воздействий и образа жизни (Табл. 6).

**Табл. 6.** Результаты факторного анализа генетических (гены ACE, HTR2A и 5-HTT), молекулярных (длина теломер), медицинских и гериатрических данных пожилых респондентов

Признак	Факторные нагрузки (Varimax normalized, Extraction: Principal components)			
	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3	Фактор 4
Возраст	<b><u>-0,81</u></b>	-0,33	-0,04	-0,28
Пол	0,46	<b><u>-0,73</u></b>	-0,22	0,19
Индекс самообслуживания.	0,01	0,26	-0,18	-0,41
Семейное положение	-0,25	-0,04	<b><u>-0,76</u></b>	0,21
Образование	0,01	0,25	<b><u>-0,82</u></b>	-0,14
Возраст отца	0,22	0,36	-0,48	0,32
Возраст матери	-0,06	-0,53	0,07	0,11
Инсульт, инфаркт	-0,04	0,01	0,12	<b><u>0,78</u></b>
Онкологические заболевания	-0,15	0,12	0,16	<b><u>-0,86</u></b>
Хронические сердечно-сосудистые заболевания	0,50	0,38	<b><u>0,62</u></b>	0,31
Хронический диабет	0,11	-0,38	<b><u>0,63</u></b>	0,13
Хронические прочие заболевания	0,50	0,38	<b><u>0,62</u></b>	0,31
Психические заболевания	<b><u>0,89</u></b>	-0,24	0,01	0,07
Прием психотропных препаратов	<b><u>0,89</u></b>	-0,24	0,01	0,07
ACE	0,21	-0,06	<b><u>-0,85</u></b>	-0,04
Серотониновый рецептор	-0,18	<b><u>-0,89</u></b>	0,01	-0,09
Серотониновый транспортер	<b><u>-0,80</u></b>	0,03	0,10	-0,32
Длина теломер	-0,36	<b><u>0,78</u></b>	0,02	-0,17
Собственное значение фактора	3,94	3,16	3,49	2,18
Объясненная дисперсия, (%)	0,22	0,18	0,19	0,12

Метод выделения факторов (по столбцам) - главные компоненты, использовано ортогональное вращение матрицы нагрузок Varimax normalized; полужирным шрифтом маркированы факторные нагрузки  $\geq 0,55$ .

При сокращении массива данных и анализе возраста, полиморфизмов генов и длин теломер в возрастной группе старше 80 лет мы получаем уже достаточно четкую корреляцию длин теломер с возрастом (Табл. 7).

**Табл. 7.** Результаты факторного анализа молекулярно-генетических данных и возраста респондентов старше 80 лет

Данные	Факторные нагрузки (Varimax normalized, Extraction: Principal components)	
	Фактор 1	Фактор 2
Возраст	-0,01	<u>0,72</u>
АСЕ	<u>0,64</u>	-0,13
Серотониновый рецептор	<u>0,78</u>	0,08
Серотониновый транспортер	0,31	0,43
Длина теломер	0,26	<u>-0,65</u>
Собственное значение фактора	1,18	1,14
Объясненная дисперсия, (%)	0,31	0,26

Метод выделения факторов (по столбцам) - главные компоненты, использовано ортогональное вращение матрицы нагрузок Varimax normalized; полужирным шрифтом маркированы факторные нагрузки  $\geq 0,55$ .

Эти данные еще раз показывают, что в исследованной нами группе четкая корреляция длины теломер с календарным возрастом респондентов появляется только после достижения ими определенного возраста, когда уже можно говорить об успешной стратегии достижения активного долголетия и анализировать связанное с ним сочетание индивидуальных различий.

Таким образом, при использовании метода факторного анализа мы получаем более четкую картину, позволяющую одновременно описать и осмыслить целый комплекс генетических, медицинских, психологических характеристик индивидуума (Смирнова и др., 2012б).

Представляется крайне интересным то, что надежная корреляция длины теломер с возрастом в нашем исследовании появляется только в старшей возрастной группе. У птиц эта корреляция выявляется гораздо раньше и четче (Heidinger et al., 2012). Вероятно, это можно объяснить влиянием на укорочение теломер не только генетических, но и социальных и психологических факторов, причем даже во время пренатального развития (Entringer et al., 2011), что вносит высокую степень гетерогенности в распределение их размеров.

Наши данные еще раз подтверждают, что старение организма и смерть как итог старения происходят не в результате исчерпания теломер во всех клетках организма, а в результате их исчерпания в клетках отдельных участков определенных тканей, патологии которых (рак, инсульт, инфаркт, сердечная недостаточность) и являются непосредственной причиной смерти в пожилом возрасте (Михельсон, Гамалей, 2010). Поэтому результаты, полученные при измерении теломер в лимфоцитах крови, на длину которых влияют очень разнообразные факторы, оказались показательными лишь в популяции людей старшего возраста.

## ВЫВОДЫ

1. Частоты вариантов генов ACE, HTR2A и 5-HTT в популяции Северо-Запада РФ близки к величинам, характерным для стран Западной Европы и достоверно отличаются от таковых в популяциях стран Дальнего Востока и США
2. Существует закономерная связь между частотой аллеля A2 гена HTR2A и долгожительством
3. Частоты II генотипа по гену ACE и LL генотипа по гену 5-HTT достоверно повышены у мужчин старших возрастных групп.
4. Существует закономерная связь между частотой D аллеля гена ACE и наличием диабета у пожилых респондентов
5. Имеется сильная коррелятивная связь короткого (S) аллеля гена 5HTT с вероятностью наличия у пожилых респондентов выраженного психического заболевания
6. В группе респондентов старшего возраста и долгожителей выявлена надежная обратная связь длин теломер с возрастом

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи:

1. Спивак И.М., Смирнова Т.Ю., Груздев Н.В., Шнейдер О.В., Абрамченко В.В., Спивак Д.Л. (2006) Корреляция психологических проявлений родового стресса с полиморфизмом гена ангиотензин-конвертирующего фермента // Цитология. 48(10): 875 – 882.
2. Спивак Д.Л., Сейлиева Н.А., Смирнова Т.Ю., Новак М.С., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2009) Психологические состояния в популяции долгожителей северо-западного региона Российской Федерации и полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента // Ученые записки СПбГМУ им. академика И.П.Павлова. 16(4): 111 – 114.
3. Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Якупова Г.С., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2011) Распределение структурных полиморфизмов генов ангиотензин-превращающего фермента и рецептора серотонина 5-HTR2A у долгожителей Северо-Запада России // Успехи геронт. 24(4): 620 – 625.
4. Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2012) Распределение полиморфизма гена серотонинового транспортера 5-HTTLPR в популяции Северо-Запада России // Успехи геронтологии. 25(1): 29 – 34.
5. Смирнова Т.Ю., Рунов А.Л., Вонский М.С., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Михельсон В.М., Спивак И.М. (2012) Длина теломер в группе долгожителей северо-западного региона России // Цитология. 54(5): 439 – 445.

### Тезисы:

1. Смирнова Т.Ю., Сейлиева Н.А., Новак М.С., Абрамченко В.В., Спивак Д.Л., Спивак И.М. (2009) Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента в популяции долгожителей северо-западного региона России // XIII международная Пущинская школа-конференция молодых ученых, Пущино. «Биология – наука 21 века»: 121 – 122.
2. Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Смирнова Т.Ю., Коротков А.Д., Спивак И.М. (2009) Особенности организации психической деятельности у долгожителей и их генетические корреляты // Программа фундаментальных исследований Президиума РАН, Москва. «Фундаментальные науки – медицине»: 164 – 165.
3. Смирнова Т.Ю., Сейлиева Н.А., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2009) Взаимосвязь психологической защиты полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента у гериатрических пациентов с хронической сердечной недостаточностью II – IV

ФК // V научно-практическая геронтологическая конференция с международным участием, Санкт-Петербург. «Пушковские чтения - 2009»: 166 – 167.

4. Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Куприянова В.А., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2010) Распределение генотипов генов ренин-ангиотензиновой и серотониновой систем в популяции долгожителей Северо-Запада России // VI научно-практическая геронтологическая конференция с международным участием, Санкт-Петербург. «Пушковские чтения»: 289 – 290.

5. Spivak D.L., Smirnova T., Zakharchuk A., Spivak I. (2010) Psychological aspects of longevity and their genetic correlates // European human genetic conference in conjunction with European meeting on Psychological aspects of genetic, Gothenburg, Sweden. European J. of Human Genetic. 16(1): 251.

6. Смирнова Т.Ю., Якупова Г.С., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2010) Изучение полиморфизмов генов ренин-ангиотензиновой и серотониновой систем в популяции долгожителей Северо-Запада России // II Конференция молодых ученых Института цитологии РАН, Санкт-Петербург. Цитология. 52(6): 506.

7. Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2010) Поиск генетических коррелятов, задействованных в обеспечении когнитивных аспектов активного долголетия // Международная конференция, Сыктывкар, Коми. «Генетика продолжительности жизни и старения»: 30 – 31.

8. Smirnova T.Yu., Spivak D.L., Zakharchuk A.G., Spivak I.M. (2010) Psychological correlates of active longevity // 6<sup>th</sup> International Interdisciplinary Congress, Sudak, Crimea. «Neuroscience for Medicine and Psychology»: 273 – 274.

9. Spivak D. L., Zakharchuk A.G., Smirnova T., Yakupova G., Kupriyanova V., Spivak I. (2010) Altered states of consciousness and longevity: psychology and genetics // 17<sup>th</sup> International Transpersonal Conference, Moscow. «Consciousness Revolution: Transpersonal Discoveries That Are Changing the World»: 285 – 293.

10. Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2010) Роль генетической предрасположенности в развитии возрастной патологии // Российская научно-практическая конференция «Терапевтические проблемы пожилого человека», Санкт-Петербург. «Профилактическая и клиническая медицина»: 393.

11. Смирнова Т.Ю., Якупова Г.С., Захарчук А.Г., Спивак И.М. (2010) Изучение полиморфизмов генов ренин-ангиотензиновой и серотониновой систем в популяции долгожителей Северо-запада России // XIV международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых, Пушкино. «Биология-наука XXI века»: 179.

12. Spivak D., Zakharchuk A., Smirnova T., Yakupova G., Kupriyanova V., Spivak I. (2011) Religiosity and alterations of consciousness related to aging and longevity, and their genetic correlates, Stockholm, Sweden. «Toward a Science of Consciousness»: 125.

13. Smirnova T.Yu., Spivak D.L., Zakharchuk A.G., Spivak I.M. (2011) Genetic mechanisms related to cognitive aspects of active longevity // 7<sup>th</sup> International Interdisciplinary Congress, Sudak, Crimea. «Neuroscience for Medicine and Psychology»: 394 – 395.

14. Smirnova T.Y., Spivak D.L., Zakharchuk A.G., Spivak I.M. (2011) Polymorphisms of genes of serotonin system and psychological defense mechanisms // 36<sup>th</sup> FEBS Congress “Biochemistry for Tomorrow’s Medicine”, Torino, Italy. The FEBS Journal. 278(1): 276.

15. Smirnova N.V., Logachov A.A., Smirnova T.Y., Fateev D.A., Smolyaninov A.B. (2011) Telomere length in cord blood stem cells // 5<sup>th</sup> Raisa Gorbacheva Memorial Meeting on Hematopoietic Stem Cell Transplantation, St.Petersburg, Russia. «Cellular Therapy and Transplantation». 3(12): 100.

16. Смирнова Т.Ю., Рунов А.Л., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Михельсон В.М., Спивак И.М. (2012) Анализ длины теломер в лимфоцитах периферической крови долгожителей // III Конференция молодых ученых Института цитологии РАН, Санкт-Петербург. Цитология. 54(4): 354-355.

## СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимов В.Н.** (2003) Молекулярные и физиологические механизмы старения, СПб, 468 с. **Глотов А.С., Глотов О.С., Москаленко М.В. и др.** (2007) Экологическая генетика, **2**, 40-3. **Михельсон В.М., Гамалей И.А.** (2010) Рад. биология. Радиоэкология, **50**, 269-275. **Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Якупова Г.С. и др.** (2011) Успехи геронтологии, **24**, 620-5. **Смирнова Т.Ю., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г. и др.** (2012) Успехи геронтологии, **25**, 29-34. **Смирнова Т.Ю., Рунов А.Л., Вонский М.С. и др.** (2012) Цитология, **54**, 439-45. **Спивак Д.Л., Сейлиева Н. А., Смирнова Т. Ю. и др.** (2009) Ученые записки СПбГМУ им. академика И. П. Павлова, **16**, 111-4. **Спивак И.М., Смирнова Т.Ю., Груздев Н.В. и др.** (2006) Цитология, **48**, 875-82. **Agerholm-Larsen B., Nordestgaard B.G., Steffensen R. et al.** (1997) *Circulation*, **95**, 2358-67. **Allsopp R.C., Vaziri H., Patterson C., et al.** (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10114-18. **Anttila S., Kampman O., Illi A. et al.** (2007) *BMC Psychiatry*, **7**, 22. **Bischoff C., Petersen H.C., Graakjaer J. et al.** (2006) *Epidemiology*, **17**, 190-4. **Blackburn E.H.** (2001) *Cell*, **106**, 661-73. **Bondy B., Kuznik J., Baghai T. et al.** (2000) *Am J Med Genet.*, **96**, 831-5. **Bondy B.** (2007) *Dialogues Clin Neurosci.*, **9**, 19-28. **Broberg K., Björk J., Paulsson K. et al.** (2005) *Carcinogenesis*, **26**, 1263-71. **Cambien F., Poirier O., Lecerf L. et al.** (1992) *Nature*, **15**, 641-4. **Cawthon R.M.** (2002) *Nucleic Acids Res.*, **30**, e47. **Chong S.A., Lee W.L., Tan C.H. et al.** (2000) *Psychiatry Res.*, **97**, 101-6. **De Meyer T., Rietzschel E.R., De Buyzere M.L. et al.** (2007) *Hum Mol Genet.*, **16**, 3097-102. **Demissie S., Levy D., Benjamin E.J. et al.** (2006) *Aging Cell.*, **5**, 325-30. **Dilley A., Austin H., Hooper W.C. et al.** (1998) *Am J Epidemiol.*, **147**, 30-5. **Douglas G., Reilly C., Dooley M.A. et al.** (2004) *The Journal of Rheumatology*, **31**, 1756-62. **Entringer S., Buss C., Andersen J. et al.** (2011) *Psychosom Med.*, **73**, 469-74. **Epel E.S., Blackburn E.H., Lin J. et al.** (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 17312-15. **Golimbet V.E., Lavrushina O.M., Kaleda V.G. et al.** (2007) *Eur Psychiatry*, **22**, 167-70. **Heidingera B.J., Blount J.D., Boner W. et al.** (2012) *PNAS*, **109**, 1743-8. **Herman A.I., Philbeck J.W., Vasilopoulos N.L., Depetrillo P.B.** (2003) *Alcohol Alcohol.*, **38**, 446-9. **Heyer N.J., Echeverria D., Farin F.M., Woods J.S.** (2008) *J Toxicol Environ Health A.*, **71**, 1318-26. **Hishimoto A., Shirakawa O., Nishiguchi N. et al.** (2006) *J Neural Transm.*, **113**, 1915-20. **Hoen P.W., de Jonge P., Na B.Y. et al.** (2011) *Psychosom Med.*, **73**, 541-7. **Inada Y., Yoneda H., Koh J. et al.** (2003) *Psychiatry Res.*, **118**, 25-31. **Inayama Y., Yoneda H., Sakai T. et al.** (1996) *Am J Med Genet.*, **67**, 103-5. **Jobim P.F.C., Prado-Lima P.A.S., Schwanke C.H.A. et al.** (2008) *Braz J Med Biol Res.*, **41**, 1018-23. **Katsuyama H., Tomita M., Hidaka K. et al.** (2008) *Int J Mol Med.*, **21**, 499-505. **Khait V.D., Huang Y.Y., Zalsman G. et al.** (2005) *Neuropsychopharmacology*, **30**, 166-72. **Kishi T., Kitajima T., Tsunoka T. et al.** (2009) *Neurosci Res.*, **64**, 231-4. **Kling A., Seddighzadeh M., Arlestig L. et al.** (2008) *Ann Rheum Dis.*, **67**, 1111-5. **Matsubara M., Suzuki M., Fujiwara T. et al.** (2002) *J Hypertens*, **20**, 1121-6. **Meira-Lima I., Shavitt R. G., Migueta K. et al.** (2004) *Genes, Brain and Behavior*, **3**, 75-9. **Mondry A., Loh M., Liu P. et al.** (2006) *BMC Nephrol.*, **6**, 1-1. **Munafò M.R., Freimer N.B., Ng W. et al.** (2009) *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, **150B**, 271-81. **Neeleman J., Ormel J., Bijl R.V.** (2001) *Psychosom. Med.*, **63**, 239-247. **O'Callaghan N.J., Dhillon V.S., Thomas P., Fenech M.** (2008) *Biotechniques*, **44**, 807-9. **Ramírez R., Carracedo J., Soriano S. et al.** (2005) *Am J Kidney Dis.*, **45**, 353-9. **Roy A., Hu X.Z., Janal M.N., Goldman D.** (2007) *Neuropsychopharmacology*, **32**, 2046-52. **Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T.** (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, NY. **Simeonova D.I., Chang K.D., Strong C., Ketter T.A.** (2005) *J Psychiatr. Res.*, **39**, 623-631. **Von Zglinicki T., Saretzki G., Ladhoff J. et al** (2005) *Mech. Ageing Develop.*, **126**, 111-7.