

Кондакова
Елена Владимировна

**ВЫЯВЛЕНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ
МАРКЕРОВ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ОРГАНИЗМА
ЧЕЛОВЕКА**

1.5.5 – физиология человека и животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Нижний Новгород – 2022

Работа выполнена на базе Института биологии и биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

**Научный
руководитель**

Ведунова Мария Валерьевна, доктор биологических наук, доцент.

**Официальные
оппоненты**

Москалев Алексей Александрович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией геропротекторных и радиопротекторных технологий ФГБУН Институт биологии Коми Научного центра Уральского отделения Российской академии наук;

Колосова Наталия Гориславовна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярных механизмов старения ФБГНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

**Ведущая
организация**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «__» _____ 2022 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.2.340.06 при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского и на сайте: <https://diss.unn.ru/files/2022/1235/diss-Kondakova-1235.pdf>

Автореферат разослан «__» _____ 2022 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Акинчиц Елена Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Одной из актуальнейших проблем современного мира, связанной с повсеместно возрастающей продолжительностью жизни, является старение населения. Старение - это сложный многофакторный процесс, ассоциированный с нарастающей функциональной дисрегуляцией и дегенерацией всех систем органов и тканей организма (Fuellen et al., 2019). Известно, что большая часть хронических и генетически детерминированных патологий связана с возрастом и развитием комплекса возраст - обусловленных нарушений метаболизма (Lowsky et al., 2014). Существующая разница между отдельными индивидуумами в процессе старения указывает на гетерогенность механизмов адаптации организма к возрастным изменениям. Следует отметить, что четких границ между здоровым и патологическим старением не существует, возраст-зависимые изменения во многом определяются скоростью старения, которую часто характеризуют как биологический возраст (Kudryashova et al., 2020). Одним из ключевых вопросов современной биологии и медицины является поиск адекватного метода оценки биологического возраста и маркеров возраст-зависимых изменений в организме.

Сегодня существует ряд подходов для построения биологических часов человека, основанных на различных параметрах. Однако на точность подобных моделей могут существенно влиять популяционные и экологические особенности региона проживания. Недавно было показано, что модели прогнозирования возраста на основе измерения метилирования ДНК являются ценным инструментом для адекватной оценки скорости возрастных изменений (Horvath et al., 2016; Christiansen et al., 2016) и выявления ускорения биологического возраста (Horvath and Raj, 2018). Однако данный метод по-прежнему является малодоступным и не может быть широко применен для определения риска ранней манифестации возраст-зависимых заболеваний и смертности. В связи с этим крайне актуальным остается поиск более простых биомаркеров, имеющих высокую прогностическую ценность при определении возрастных изменений и риска смертности.

В настоящее время существует ряд биомаркеров, которые коррелируют с возраст-зависимыми изменениями организма (Hartmann et al., 2021). В частности, процесс старения характеризуется накоплением генетических повреждений на протяжении всей жизни, поэтому одним из биомаркеров старения является геномная нестабильность (da Silva et al., 2019). Кроме того, было показано, что хроническое системное воспаление слабой степени, которое сопровождает старение, известное как «inflammaging», связано с множеством болезненных состояний, обычно наблюдаемых у пожилого населения (Santoro et al., 2021). Проведенные ранее исследования демонстрируют применимость ряда биохимических показателей функционирования различных систем организма в качестве предикторов возраста (Jylhävä et al., 2017). Выявление ранних биомаркеров старения может позволить не только спрогнозировать индивидуальную траекторию старения организма, но и отложить, а в некоторых случаях и предотвратить развитие заболеваний.

К патологиям, провоцирующим возрастную акселерацию и ведущим не только к ухудшению качества жизни, но и ранней смертности, можно отнести ВИЧ

(Horvath and Levine, 2015), синдром Дауна (Garagnani, et al., 2015), нейродегенеративные заболевания (Levine et al., 2015), а также хроническую болезнь почек (ХБП). Сегодня распространенность данного заболевания достигла масштабов эпидемии и составляет примерно 10% от населения Земли (Stenvinkel, 2018). Пациенты с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (ТХПН) - наиболее тяжелой формой ХБП, демонстрируют фенотипы преждевременного старения во всех системах органов (Schroth et al., 2020; Ebert et al., 2021), таким образом, данная патология может рассматриваться в качестве модели ускоренного старения.

Кроме того, на протяжении многих десятилетий нерешенным остается вопрос о причинах различий в продолжительности жизни у мужчин и женщин. Лонгитюдные популяционные исследования в различных странах и в разные эпохи показали, что женщины живут дольше мужчин (Luy and Gast, 2014). В настоящее время разница в продолжительности жизни между мужчинами и женщинами варьирует в зависимости от региона проживания, достигая максимума в России – 9 лет (Foreman et al., 2018). Гендерные различия остаются постоянными в отношении сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний и рака. При этом предложенные ранее гипотезы относительно половых различий в продолжительности жизни до сих пор не нашли убедительного подтверждения (Marais et al., 2018; Vaum et al., 2021). Выявление ранних возрастных изменений и изучение гендерных различий этих процессов имеет решающее значение для ранней профилактики патологий и достижения цели здорового старения.

Цель и основные задачи исследования

Целью настоящего исследования стало выявление комплекса новых физиологических маркеров, ассоциированных с возраст-зависимыми изменениями в организме человека.

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

1. Охарактеризовать возрастные особенности с учетом гендерных факторов в выборке жителей центрального региона Российской Федерации;
2. Оценить ряд генетических, биохимических, иммунологических и психофизиологических показателей, ассоциированных с возраст-зависимыми изменениями организма человека;
3. Проанализировать биохимические, иммунологические и эпигенетические факторы ускоренного старения. Провести оценку прогностической значимости отдельных показателей на клинической модели ускоренного старения;
4. Выявить физиологические параметры для построения новых моделей определения биологического возраста человека.

Научная новизна

Впервые проведены масштабные исследования полногеномного метилирования ДНК жителей центрального региона Российской Федерации. Определен биологический возраст на основе полученных результатов с

использованием основных эпигенетических моделей, а также впервые верифицирована модель определения фенотипического возраста на жителях Российской Федерации.

Особенностью данного исследования является изучение маркеров возраст-зависимых изменений организма среди различных групп населения, в том числе долгожителей (старше 85 лет), а также их прямых потомков (от 1 до 3-х поколений), лиц с ускоренным старением (пациенты с ТХПН, находящиеся на гемодиализной терапии) и условно здоровых добровольцев с учетом гендерных различий. Данный подход позволяет сократить общепопуляционные колебания при оценке различных показателей и более точно выявлять значимые маркеры.

Изучены физиологические особенности возраст-зависимых изменений организма человека с учетом гендерных различий, показаны особенности гендер-специфичной возрастной акселерации.

Впервые изучен комплекс факторов (иммунологических, биохимических), обуславливающих ускоренное старение организма у пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. Установлена возрастная акселерация по основным типам определения биологического возраста, включая эпигенетические модели на группе пациентов с ТХПН. Выявлено достоверно значимое изменение содержания биохимических и иммунологических маркеров в плазме крови пациентов с ТХПН по сравнению с контрольной группой. Показано, что концентрация всех исследуемых биомаркеров не коррелирует с продолжительностью и клиническими показателями заболевания, а вероятно определяется более сложными индивидуальными механизмами гомеостатической регуляции. Впервые показано прогностическое значение определения FGF21 у пациентов с ТХПН на гемодиализной терапии с неблагоприятным годичным прогнозом выживаемости.

В результате проведенного исследования были получены данные, позволившие разработать новые модели определения биологического возраста человека (Yusipov, Kondakova et al., 2022) на основе биохимических маркеров, иммунологического профиля и психофизиологических показателей организма человека.

Научно-практическая значимость

Разработанные биологические часы и выявленные механизмы развития возраст-зависимых изменений могут стать фундаментальной основой для разработки новых терапевтических стратегий.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, позволяют существенно изменить подход к молекулярной диагностике клинически значимых патологий, связанных с возрастом и являются фундаментальной основой для разработки системы наиболее точного определения биологического возраста человека.

Выявление возрастной акселерации и маркеров риска смертности имеет особое значение для пациентов с хронической болезнью почек и может привести к появлению новых терапевтических подходов лечения терминальной стадии хронической почечной недостаточности.

Результаты диссертационного исследования используются в образовательном процессе кафедры общей и медицинской генетики Института биологии и биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработанные в Европе и Америке модели определения биологического возраста (фенотипического, эпигенетического) являются адекватными способами оценки биологического возраста для популяции жителей центрального региона Российской Федерации.
2. Показана отрицательная возрастная акселерация у женщин в моделях определения фенотипического и эпигенетического возраста.
3. Выявлен комплекс биохимических, иммунологических и психофизиологических показателей, ассоциированных с возраст-зависимыми изменениями в организме человека.
4. Терминальная стадия хронической почечной недостаточности ассоциирована с возрастной акселерацией, характеризующейся как фенотипическими и эпигенетическими, так и иммунологическими изменениями.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал в проведении всех экспериментальных исследований, обработке полученных и изложенных в диссертации результатов, их анализе и обсуждении, а также совместно с соавторами участвовал в написании научных статей и апробации результатов исследования на конференциях и симпозиумах.

Достоверность научных результатов

Достоверность научных результатов подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных и надежностью использования высокотехнологичных методов исследования, а также качественной и количественной согласованностью с результатами независимых исследований других авторов.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на 13 международных и российских мероприятиях, в том числе: VI съезде биофизиков России (16-21 сентября 2019, Сочи), XXI Зимней молодежной школе ПИЯФ по биофизике и молекулярной биологии (24 - 29 февраля 2020, Курчатовский институт, Санкт-Петербург), 73-й всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (28 - 30 октября 2020, Нижний Новгород), 74-й Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», посвященной памяти проф. А.П. Веселова (Н.Новгород, 20–23 апреля 2021 г.), VII съезде физиологов СНГ с международным участием (Сочи-Дагомыс, 3-7 октября 2021 г.), 3rd International Conference Volga Neuroscience

Meeting 2021 (Nizhny Novgorod, «Chayka» Resort Hotel August 24-27, 2021 г.), III конференции «Фундаментальные науки для медицины-2021» (FSM-2021) (Нижний Новгород, 27 декабря 2021 г.), XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2022» (Санкт-Петербург, 24-26 марта 2022 г.), а также конкурсах инновационных проектов «МИР» и «УМНИК».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 работ, из них 4 статьи в реферируемых журналах, входящих в перечень ВАК, 14 тезисов в сборниках всероссийских и международных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, выводы и список литературы. Работа изложена на 119 страницах, содержит 35 рисунков и 9 таблиц. Список литературы содержит 147 источников.

Благодарности

Автор выражает благодарность за разработку моделей определения биологического возраста ipAGE и Age-Estimation Clock, а также модели определения когнитивного возраста человека сотрудникам кафедры прикладной математики ИИТММ ННГУ Юсипову И.И., Кривоносову М.И. и Иванченко М.В. За помощь в наборе пациентов с хронической почечной недостаточностью научному сотруднику кафедры общей и медицинской генетики ИББМ ННГУ, главному врачу клиники амбулаторного гемодиализа «Фесфарм НН» Лобановой Н.А. За помощь в визуализации данных магистранту 2-го года обучения направления «Биоинформатика» ИББМ ННГУ Корсаковой Д.О.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обследуемая группа состояла из 405 человек, проживающих на территории Нижегородской области. Группу условно здоровых добровольцев составили мужчины и женщины в возрасте 21-83 лет, не имеющие среди ближайших предков долгожителей (всего 167 человек, средний возраст $55,45 \pm 2,056$ лет). В группу долгожителей вошло 40 человек в возрасте 86 – 102 лет (средний возраст $91,9 \pm 1,1$ год). В группу потомков долгожителей вошли представители 1, 2 и 3 поколений в возрасте 22 – 77 лет (средний возраст $52,8 \pm 4,2$ года). При обследовании данных групп лиц в качестве входного контроля были выдвинуты следующие условия: отсутствие хронических и онкологических заболеваний в стадии обострения, а также отсутствие острых респираторных вирусных инфекций на момент сдачи биоматериала. Также в контрольную группу не включались беременные и кормящие женщины.

В группу пациентов с терминальной стадией ХБП вошло 112 человек в возрасте 25 - 83 года (средний возраст $54, 66 \pm 1,46$ лет). Все пациенты проходили процедуру гемодиализа 3 раза в неделю (каждый сеанс по 4-5 часов), стаж гемодиализа варьировал от 1 до 231 месяца (средний период гемодиализа $68 \pm 4,56$ месяцев). Каждый человек, участвующий в исследовании, заполнял добровольное информированное согласие. Все эксперименты проводились в соответствии с принципами Хельсинской декларации (Финляндия, 1964) и после рассмотрения этическим комитетом Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского (протокол №1 от 2 декабря 2020 года).

Материалом для исследования послужила венозная кровь с добавлением антикоагулянтов Li-гепарина и КЗ-ЭДТА. Для биохимического и иммуноферментного анализа использовалась негемолизированная плазма, полученная не позже 2 часов после забора крови путем осаждения центрифугированием в течение 10 минут при 3000 об/мин. Цельную кровь и плазму хранили в аликвотах при -80°C , не допуская повторных циклов оттаивания и заморозки.

Для определения биологического возраста использовалась модель PhenoAge (Levine et al., 2018), которая учитывает показатели общего клинического анализа (общее содержание лейкоцитов (WBC), средний объем эритроцита (MCV), процент лимфоцитов (Lym%), ширина распределения эритроцитов по объему (RDW-CV), и биохимических показателей крови (альбумин, глюкоза, креатинин, щелочная фосфатаза, С-реактивный белок), а также значение хронологического возраста. Общеклинические показатели крови определялись на автоматическом анализаторе Abacus Junior 30 (18 параметров). Биохимические маркеры определялись на плазме с добавлением Li-гепарина на полуавтоматическом анализаторе StatFax 3300 с использованием наборов реагентов ДИАКОН-ДС (Россия).

Для определения однонуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, была выделена геномная ДНК из клеток цельной крови с помощью набора реагентов «ДНК–Экстран–1» в соответствии с инструкцией производителя (Синтол, Россия). Определение полиморфизмов было проведено методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. В ходе работы использовали наборы для определения полиморфизмов C1997A гена COL1A1 (rs1107946), Gln279Arg гена MMP9 (rs17576), Asn357Thr гена MMP12

(rs652438), R3500Q гена ApoB (rs5742904) и A1298C гена MTHFR (rs1801131) (Синтол, Россия). Анализ проводили в соответствии с инструкцией производителя на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Для анализа данных использовали два варианта обработки результатов исследования: анализ по пороговому циклу и анализ по дискриминации аллелей.

Сфигмография добровольцев, как оценка функционального состояния стенки сосудов, была получена с помощью прибора BOSO ABI-SYSTEM 100 (BOSCH + SOHN GmbH u. Co. KG, Германия).

Для оценки уровня aberrаций хромосом в исследуемых группах проводили цитогенетическое исследование с учетом рекомендаций российского общества медицинских генетиков (Kuznetsova et al., 2019). Для кариотипирования были приготовлены не прямые препараты из 48-часовой культуры ФГА-стимулированных лимфоцитов периферической крови, проведено дифференциальное GTG окрашивание полученных препаратов и проанализировано не менее 100 метафазных пластинок с использованием светового микроскопа «Primo Star» (Carl Zeiss, Германия) в проходящем свете под масляной иммерсией при суммарном увеличении x1000. Были учтены следующие типы хромосомных перестроек: транслокации, делеции, парные хромосомные и одиночные хроматидные фрагменты, а также разрывы в области центромеры. Структурные нарушения хромосом были обозначены согласно Международной системе цитогенетической номенклатуры хромосом человека (ISCN, 2013).

Для определения концентрации биомаркеров, ассоциированных со старением, а именно GDF15, FGF21, FGF23 был проведен иммуноферментный анализ плазмы крови с использованием коммерческих наборов (Cloud-Clone Corp., USA). Анализ проводили на плазме с использованием антикоагулянта K3-EDTA, включая образцы без следов гемолиза и липемии.

Для характеристики иммунологического профиля проводили мультиплексный анализ 47 цитокинов по технологии xMAP (LUMINEX, США) с использованием коммерческой тест-системы Milliplex MAP (Millipore, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Для выявления эпигенетических маркеров ускоренного старения был проведен полногеномный анализ метилирования на чипах Infinium Methylation EPIC Bead Chip (850k) в соответствии с инструкциями производителя. Выделение и очистка ДНК осуществлялась с помощью фенол-хлороформного метода. Бисульфитная обработка 250 нг выделенной и очищенной ДНК проведена с использованием набора EpiMark Bisulfite Conversion Kit (NEB). Сканирование биочипов для оценки метилирования было осуществлено на системе iScan (Illumina).

Для определения эпигенетического возраста был проведен анализ метилома с использованием калькулятора Horvath. Рассматривали 4 основные модели эпигенетического возраста и связанной с ними акселерации: DNAmAgeHannum, DNAmAge, DNAmPhenoAge, DNAmGrimAge. Для расчета акселерации различных типов возраста, рассматриваемых в исследовании, была применена модель линейной регрессии, разработанная коллективом кафедры прикладной математики ИИТММ ННГУ с использованием пакета statsmodels на языке программирования Python.

Для выявления психофизиологических показателей, связанных с возрастом, было проведено исследование с применением трех когнитивных тестов, включая 2 сенсомоторных теста (на арифметические вычисления и на идентификацию перевернутых букв) и тест компьютерной цветовой кампиметрии. Тестирование проводилось на веб-платформе ApWay (<http://cogni-nn.ru/>), разработанной сотрудниками кафедры психофизиологии ННГУ им. Н.И. Лобачевского в соответствии с указанными рекомендациями (Полевая, 2019).

Статистический анализ был выполнен с помощью пакета программ MS Excel, GraphPad Prism (v.6.0) и с использованием библиотеки Python SciPy v1.6.3. Данные каждой выборки проверяли на нормальность распределения с помощью теста Д'Агостино–Пирсона или Шапиро-Уилка. Достоверность различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами определяли по критерию χ^2 . Различия считали достоверными при уровне значимости p -значение (p) $< 0,05$. Для поиска наиболее ассоциированных с заболеванием маркеров был применен двусторонний тест Манна-Уитни. Полученные количественные данные представлены в виде медианы с указанием первого и третьего квартиля Me [Q1; Q3]. Для выявления корреляционных связей между двумя количественными параметрами использовали тест ранговой корреляции Спирмена, корреляция между биомаркерами считалась значимой при $p < 0,05$, а коэффициент корреляции (r) по модулю выше 0,5. Тот же подход был использован для поиска биомаркеров, связанных с хронологическим, фенотипическим, эпигенетическим возрастом и их ускорениями, которые были определены как остатки от хронологического возраста.

Результаты и их обсуждение

Определение биологического возраста с использованием модели *PhenoAge*

На первом этапе исследований определен биологический возраст в группе условно здоровых добровольцев и верифицирована модель *PhenoAge* (Levine et al., 2018) для популяции жителей Центрального региона РФ (Нижегородская область). Данная модель определения фенотипического возраста учитывает общеклинические и биохимические показатели крови (WBC, MCV, LYM (%), RDW-CV (%), альбумин, глюкоза, креатинин, щелочная фосфатаза, С-реактивный белок) и значение хронологического возраста.

По результатам корреляционной зависимости хронологического и фенотипического возраста была установлена достоверная связь ($r=0,91$, $p<0,05$) между фенотипическим и хронологическим возрастом исследуемой группы условно здоровых добровольцев (рис. 1а).

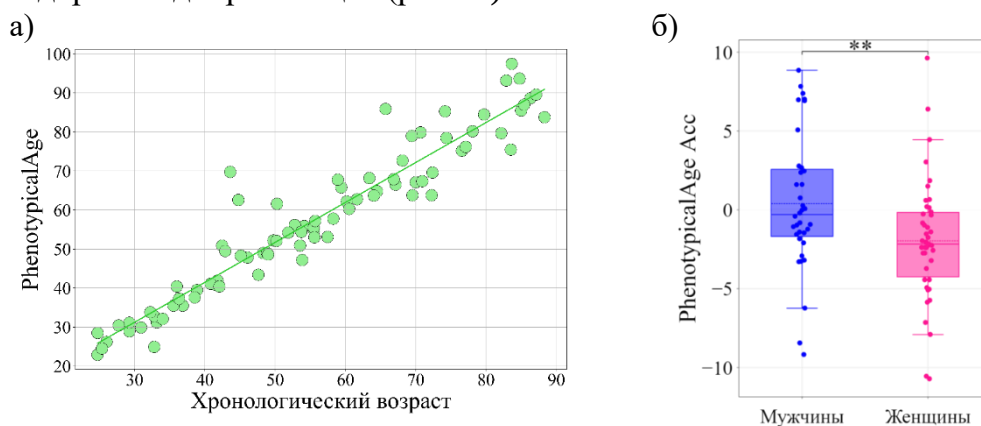


Рис. 1. а) Зависимость фенотипического возраста от хронологического в контрольной группе добровольцев; б) Различия в возрастной акселерации в модели определения фенотипического возраста в группе мужчин и женщин; ** - статистически значимо при $p<0,01$ (р-значение критерия Манна-Уитни)

Среднее значение фенотипического возраста в контрольной группе составило $49,09 \pm 2,13$ лет, среднее отклонение от хронологического возраста составило 1,1 год. Данная модель показала высоко воспроизводимые результаты в рамках данного исследования, таким образом, она может применяться для определения биологического возраста на популяции жителей Нижегородской области.

При разделении данной группы по гендерному признаку, было выявлено достоверное увеличение возрастной акселерации у мужчин относительно женщин (рис. 1б). Отклонение в группе женщин составило - 1,9 лет, а в группе мужчин + 0,4 года. Полученные результаты соотносятся с общепопуляционными данными относительно неравной продолжительности жизни мужчин и женщин для жителей Российской Федерации (Foreman et al., 2018). При этом в группе долгожителей 63% составляют женщины, их значение биологического возраста в среднем на $2,1 \pm 0,4$ года меньше, чем у мужчин.

Возраст-зависимые изменения кариотипа человека

Одним из факторов возраст-зависимых изменений является геномная нестабильность, маркером которой может служить спонтанная частота хромосомных aberrаций. Для выявления структурных перестроек и численных

аномалий хромосомного набора был проведен стандартный цитогенетический анализ в группе долгожителей и контроля. Для определения спонтанного уровня хромосомных aberrаций для каждого человека было проанализировано не менее 100 метафазных пластинок. Среднее количество метафазных пластинок согласно критерию Манна-Уитни в контрольной группе достоверно выше ($p < 0,05$), чем у долгожителей почти в 2 раза, что может быть связано с уменьшением митотической активности клеток при старении.

Для определения уровня aberrаций рассчитывали частоту разрывов хроматид для каждого типа aberrаций хромосом, а также общее число разрывов на 100 клеток. Показано, что в группе долгожителей общее количество aberrаций достоверно выше, чем в контрольной группе (таб.1).

Таблица 1. Спонтанная частота хромосомных aberrаций на 100 клеток (среднее $\pm$ SEM)

Группа	Контроль	Долгожители
Общее количество aberrаций	5,126 $\pm$ 0,884	11,74$\pm$2,793*
Транслокации	0,8 $\pm$ 0,562	1,083 $\pm$ 0,839
Делеции	0,878 $\pm$ 0,497	1,356 $\pm$ 0,56
Парные фрагменты	1,287 $\pm$ 0,496	7,452$\pm$2,932*
Одиночные фрагменты	1,883 $\pm$ 0,672	1,35 $\pm$ 0,466
Разрывы по центромере	0,278 $\pm$ 0,293	0,493 $\pm$ 0,356

* - статистически значимо при $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента)

В контрольной группе выявлена достоверная корреляционная связь между уровнем aberrаций и хронологическим возрастом (коэффициент корреляции 0,635), в группе долгожителей такая связь отсутствовала. Было показано, что в группе долгожителей отмечается снижение частоты делеций с возрастом по сравнению с контрольной группой. Это дает возможность предположить наличие особенностей функционирования репарационных систем у долгожителей, которые могут обеспечивать определенную геномную стабильность относительно других групп.

Не было установлено влияния возраста на частоту других типов aberrаций в исследуемых группах, что совпадает с некоторыми из литературных данных (Wojda et al., 2006). Анализ отклонения биологического возраста от хронологического показал, что биологический возраст никак не коррелирует с частотой aberrаций. Также не было выявлено достоверных различий в частоте aberrаций и количестве анеуплоидий у лиц с ускоренным и замедленным старением.

Оценка однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов как фактора риска развития сердечно-сосудистых заболеваний

Поскольку сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности населения в мире, а своевременное определение факторов риска развития патологий сердца и сосудов может увеличить выживаемость пациентов, проводили определение влияния однонуклеотидных полиморфизмов 5 генов, ассоциированных с предрасположенностью к ССЗ, а именно генов

матриксной металлопротеиназы — MMP9, MMP12, коллагена 1 типа—CollA1, гена метилентетрагидрофолатредуктазы — MTHFR и гена, кодирующего белок аполипопротеин В — ApoB на показатели, характеризующие эластичность стенки сосудов.

Анализировалась частота распределения аллелей и генотипов в 3 группах: долгожителей, потомков долгожителей и условно здоровых добровольцев. Выявлено, что однонуклеотидная замена в гене ApoB отсутствует в исследуемых группах долгожителей и потомков долгожителей. Частота встречаемости вариантов полиморфизма в контрольной группе составила 8,9%. Не было выявлено достоверных различий в частоте встречаемости изучаемых полиморфизмов в разных исследуемых группах.

При изучении влияния однонуклеотидных полиморфизмов в исследуемых генах на изменение функционального состояния стенки сосудов, анализировали показатели сфигмографии. Выявлено достоверно значимое повышение показателей скорости каротидно-феморальной пульсовой волны (кфСПВ) в группе лиц с генотипом CC (дикий тип) по сравнению с генотипом CA SNP COL1A1 (rs1107946) (рис.2).

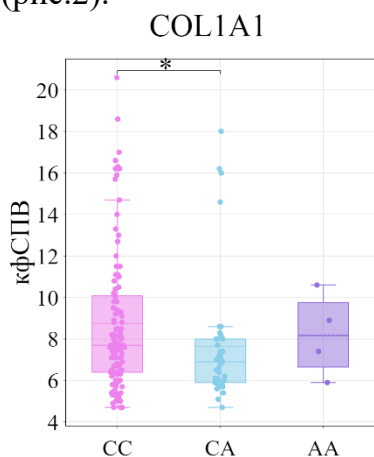


Рис.2. Показатели скорости каротидно-феморальной пульсовой волны (кфСПВ) в исследуемой группе лиц в зависимости от генотипов полиморфизма rs1107946 гена COL1A1; * – статистически значимо при $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

Несмотря на то, что пока нет информации о взаимосвязи SNP C1997A гена COL1A1 и риском развития ССЗ, можно рассматривать генотип СА как наиболее адаптивный в эволюционном плане.

При анализе полиморфизма гена MMP9 найдено достоверно значимое повышение показателей систолического и диастолического артериального давлений в группе лиц с генотипом AA по сравнению с генотипом AG (рис.3). Показано, что среди лиц с генотипом AG достоверно реже встречается гипертония по сравнению с подгруппами, гомозиготными как по дикому, так и по минорному аллелям.

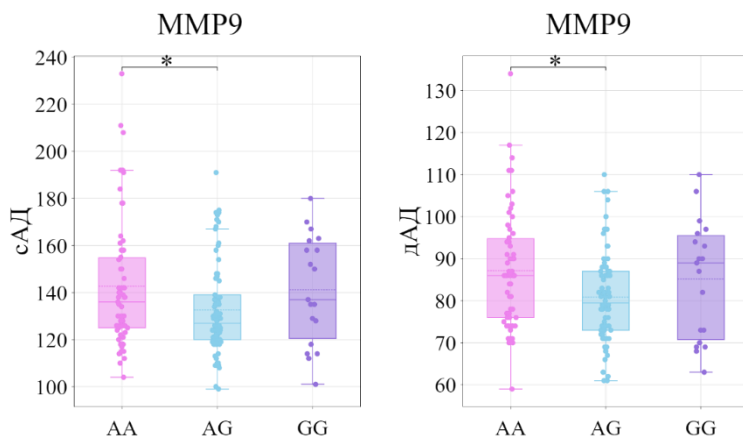


Рис. 3. Различие показателей систолического (сАД) и диастолического (дАД) артериального давлений в исследуемой группе лиц в зависимости от генотипов полиморфизма rs17576 гена MMP9; * – статистически значимо при $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

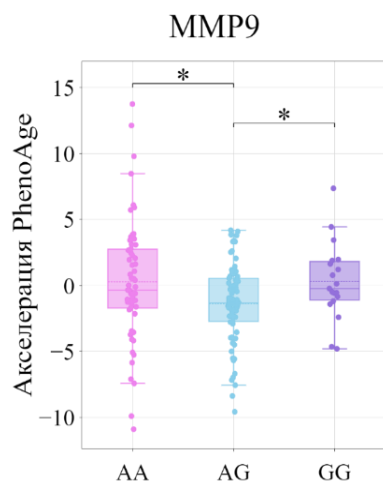


Рис. 4. Значение акселерации биологического возраста, рассчитанного по модели PhenoAge в исследуемой группе лиц с полиморфными вариантами гена MMP9; * – $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

Выявлено достоверно значимое увеличение показателя акселерации биологического возраста, рассчитанного по модели PhenoAge, среди подгрупп с генотипами AA и GG и отрицательное значение акселерации среди гетерозиготных носителей аллеля данного полиморфизма (рис. 4).

Полученные результаты подтверждают благоприятное влияние гетерозиготного носительства аллеля полиморфизма гена MMP9 по сравнению с гомозиготными вариантами. Предположительно, наличие данного варианта генотипа может быть ассоциировано с более поздней манифестацией возраст-зависимых заболеваний, в частности, сердечно-сосудистых патологий.

Определение эпигенетического возраста и возрастной акселерации

Для определения эпигенетического возраста был проведен полногеномный анализ метилирования. Для расчета значений по основным моделям определения эпигенетического возраста: DNAmAge, DNAmAgeHannum, DNAmPhenoAge, DNAmGrimAge использовался калькулятор Horvath.

Для определения возрастной акселерации эпигенетического возраста субъектов, рассматриваемых в исследовании, было рассчитано значение остатков от модели линейной регрессии контрольной группы. Группы мужчин и женщин среди условно здоровых добровольцев анализировали отдельно. Результаты различий в возрастной акселерации между группами по основным типам эпигенетических возрастов представлены на рисунке 5.

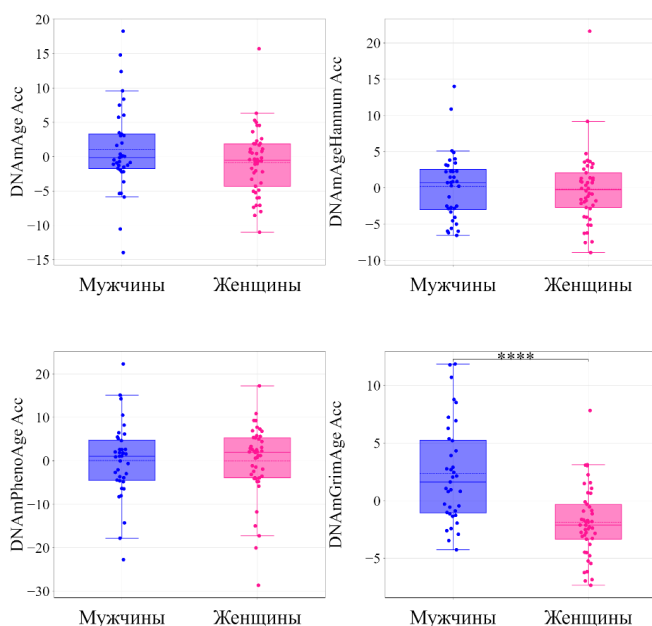


Рис. 5. Различия в возрастной акселерации по основным типам эпигенетического возраста в контрольной группе мужчин и женщин; **** - статистически значимо при $p < 0,0001$ (критерий Манна-Уитни)

Выявлено достоверно значимое увеличение возрастной акселерации эпигенетического возраста по модели DNAmGrimAge в группе мужчин ($2,2 \pm 0,7$ лет) относительно женщин ($-2,0 \pm 0,4$ года). Для данной модели определения биологического возраста показана связь с множеством возрастных заболеваний, а также способность в прогнозировании риска смертности.

Определение уровня некоторых биомаркеров, ассоциированных со старением

В настоящем исследовании были изучены три биомаркера (GDF15, FGF21 и FGF23), которые, согласно литературным данным, коррелируют с различными геронтологическими синдромами. При разделении групп по гендерному признаку было выявлено достоверно значимое различие в содержании белка FGF23 между мужчинами и женщинами. Различий в содержании двух других биомаркеров выявлено не было (рис. 6).

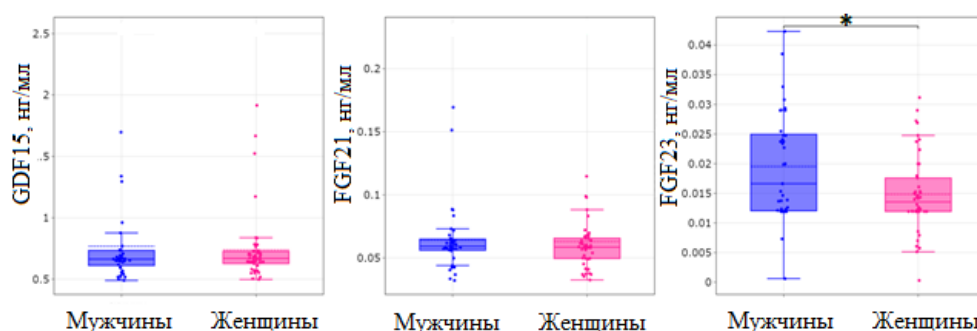


Рис. 6. Результаты определения количественного содержания GDF15, FGF21, FGF23 в плазме крови в группах условно здоровых мужчин и женщин; * – статистически значимо при $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

Выявление иммунологических показателей, ассоциированных с биологическим возрастом человека

Определены провоспалительные и противовоспалительных маркеры цитокинового профиля человека. В результате было выявлено 6 показателей, для которых показана взаимосвязь, как с хронологическим возрастом, так и с моделями определения фенотипического и эпигенетического возраста в контрольной группе добровольцев. При этом кроме классических маркеров воспаления, таких как интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли (TNF- α) были выявлены нетипичные биомаркеры (MCP-1, M-CSF, CXCL9, VEGF-A), которые, предположительно, вовлечены в процессы ускоренного старения. Гендерных различий в иммунологических показателях, связанных с различными типами определения биологического возраста выявлено не было.

На основе проведенных исследований с применением регрессионной модели Elastic Net в группе здоровых добровольцев была разработана модель ipAGE (Yusipov et al., 2022), которая предсказывает возраст на основе оцененного ранее иммунологического профиля (рис.7). Модель включает в себя 38 из 46 биомаркеров, коэффициент детерминации 0,79, средняя абсолютная ошибка 6,82 года, среднеквадратичная ошибка 8,17 года.

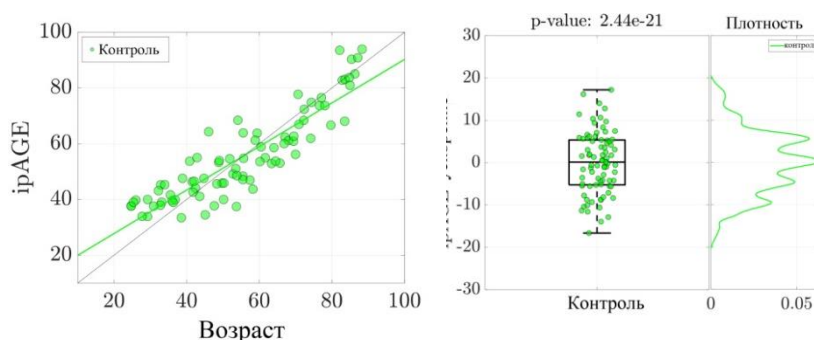


Рис. 7. Связь между ipAGE и хронологическим возрастом и ускорение ipAGE в контрольной группе добровольцев

Ранее было показано, что хемокин CXCL9 является ключевым участником системного хронического воспаления, связанного со старением сердечно-сосудистой системы и нарушением эластичности сосудов. Для выявления метаболических взаимоотношений между оцененными ранее показателями иммунного статуса: GDF15, FGF21 и CXCL9 была проанализирована взаимная корреляция концентраций биомаркеров в контрольной группе (рис. 8).

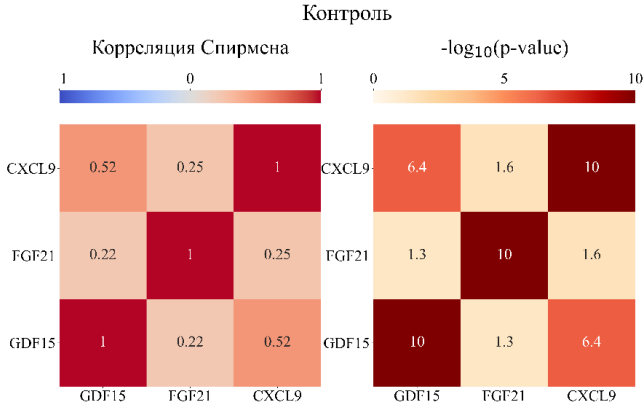


Рис. 8. Коэффициент корреляции Спирмена между исследуемыми биомаркерами GDF15, FGF21 и CXCL9 для контрольной группы условно здоровых добровольцев

Тепловые карты коэффициента корреляции Спирмена показывают взаимосвязь между концентрациями биомаркеров GDF15 и CXCL9.

Для изучения взаимосвязи между исследуемыми биомаркерами и основными рассчитанными эпигенетическими возрастами проводили корреляционный анализ Спирмена (рис. 9).

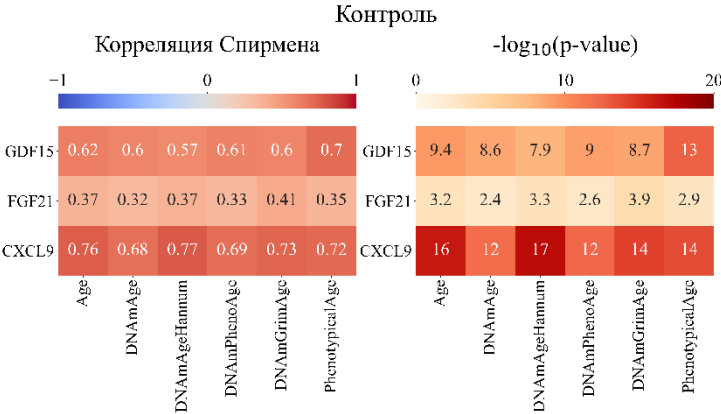


Рис.9. Коэффициент корреляции Спирмена между исследуемыми биомаркерами и основными рассчитанными эпигенетическими возрастами для контрольной группы

Тепловые карты коэффициентов корреляции Спирмена демонстрируют взаимосвязь между содержанием сразу двух биомаркеров: GDF15 и CXCL9 и всеми рассчитанными способами определения возраста. Однако взаимосвязи между концентрацией выбранных биомаркеров и возрастной акселерацией в контрольной группе выявлено не было.

Полученные данные по концентрации в крови трех биомаркеров позволили разработать регрессионную модель биологического возраста Age-Estimation Clock. Чтобы разработать модель, которая может предсказать хронологический возраст с

использованием трех биомаркеров (GDF15, FGF21, CXCL9) была применена модель множественной линейной регрессии. Регрессия хронологического возраста по трем биомаркерам (CXCL9, FGF21, GDF15) показана в контрольной группе добровольцев (рис. 10).

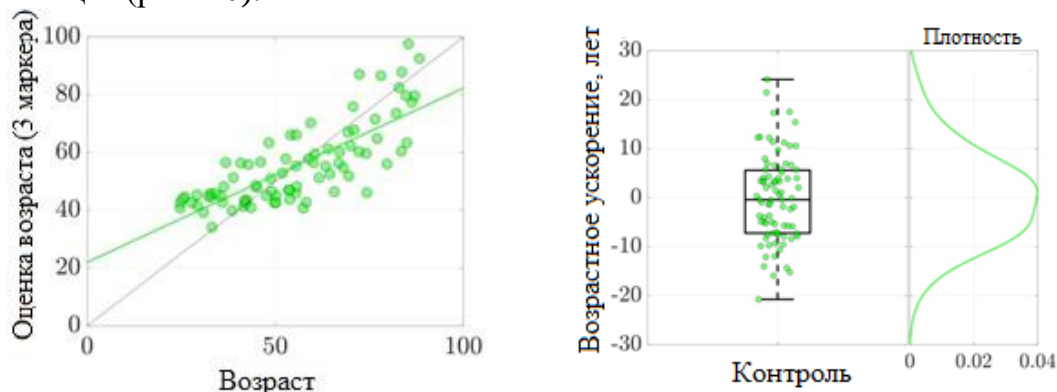


Рис. 10. Часы оценки возраста (Age-Estimation Clock), основанные на концентрации 3 биомаркеров, и возрастная акселерация в контрольной группе добровольцев

Выявление возраст-опосредованных психофизиологических показателей

Проведено исследование ассоциаций между отдельными психофизиологическими показателями и хронологическим возрастом и показана значимая корреляция (p -значение $<0,001$, корреляция Пирсона) для 21 из 64 когнитивных показателей, которые являются производными 5 когнитивных индексов. Данные психофизиологические количественные показатели одинаковы как для фенотипического возраста (модель PhenoAge), так и для хронологического возраста.

При исследовании корреляции показателей с различными типами определения эпигенетического возраста, было выявлено, что 11 количественных показателей показывают значительную корреляцию ($p < 0,001$, корреляция Пирсона) с DNAmAge, 9 количественных показателей с DNAmAgeHannum, 6 количественных показателей с DNAmGrimAge и 4 количественных показателя с DNAmPhenoAge. При этом общим маркером с оценкой хронологического возраста является время распознавания стимула в тесте кампиметрии (CM_t +).

На основе проведенных исследований с учетом выявленных психофизиологических показателей, связанных с возрастом, сотрудниками кафедры прикладной математики ИИТММ были созданы хронологические предикторы когнитивного возраста (когнитивные часы) с использованием различных моделей машинного обучения. Проведенный анализ выявил наличие нелинейности в возрастных изменениях когнитивных тестов индивидуумов. Выявлена более тесная связь психофизиологических показателей с биологическим возрастом, чем с хронологическим.

Наиболее точные прогнозы эпигенетического возраста с использованием когнитивного статуса человека были получены для DNAmAge и DNAmAgeHannum.

При исследовании взаимосвязи между эпигенетическими, фенотипическими и когнитивными часами была показана высокая корреляция ($r > 0,75$) всех моделей определения биологического возраста с хронологическим возрастом. При этом значимых корреляций между возрастными ускорениями когнитивных, фенотипических и эпигенетических часов выявлено не было (рис.11).

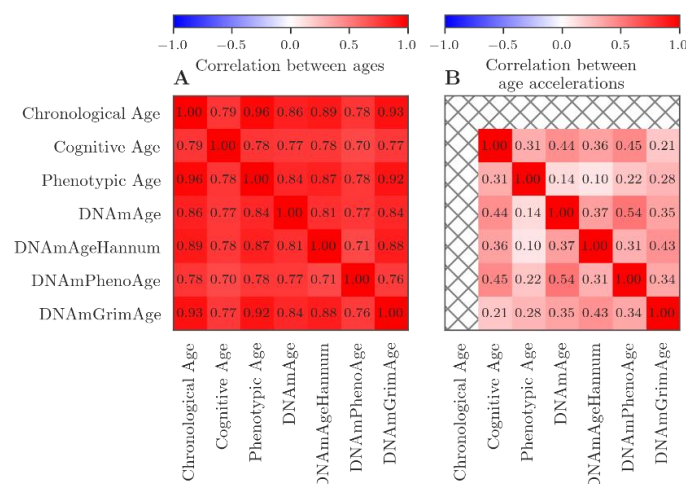


Рис. 11. Корреляционный анализ различных типов определения возраста (А) и возрастных ускорений (В). Каждая цветная ячейка тепловых карт иллюстрирует корреляцию Пирсона между разными типами возрастов и возрастными ускорениями

Таким образом было показано, что для адекватной оценки возраст-зависимых изменений организма человека можно применять определение биологического возраста с использованием биохимических параметров крови, доступных эпигенетических моделей, а также модели, основанной на иммунологических показателях крови.

Исследование биологического возраста при терминальной стадии хронической почечной недостаточности

В некоторых исследованиях было показано, что хроническая болезнь почек ассоциирована с фенотипом ускоренного старения. Применение общепринятых моделей определения биологического возраста человека позволило установить, что терминальная стадия хронической почечной недостаточности (ТХПН) ассоциирована с увеличением биологического возраста, что может рассматриваться как неблагоприятный прогностический признак развития сопутствующих заболеваний и ранней смертности. С применением модели PhenoAge была установлена значительная возрастная акселерация ($+30,1 \pm 1,6$ лет) в группе пациентов с ТХПН по сравнению с группой условно здоровых добровольцев (рис.12).

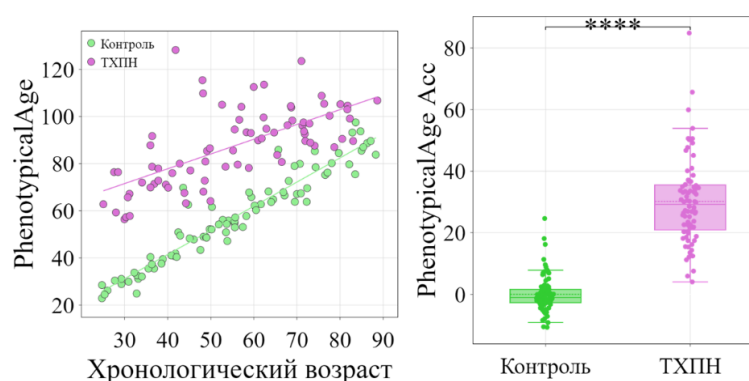


Рис. 12. Зависимость фенотипического возраста и связанной с ним акселерации от хронологического возраста в группе пациентов с ТХПН по сравнению с контрольной группой; **** - $p < 0,0001$ (критерий Манна-Уитни)

С использованием эпигенетических часов, было показано, что трое из четырех эпигенетических возраста (DNAmAge, DNAmPhenoAge, DNAmGrimAge) показывают статистически значимую (р-значение Манна-Уитни ниже 0,05) возрастную акселерацию в группе пациентов с ТХПН (рис.13).

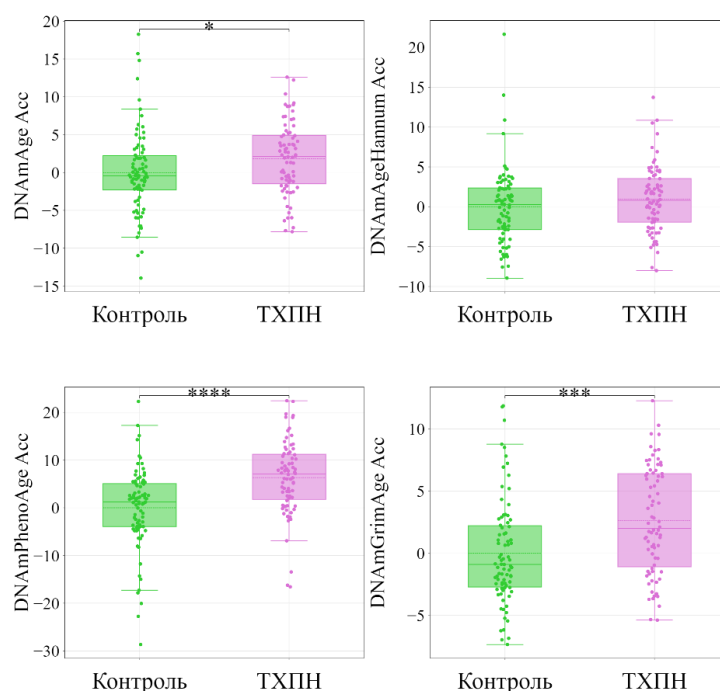


Рис.13. Различия в возрастной акселерации по основным типам рассчитанного биологического возраста: DNAmAge, DNAmAgeHannum, DNAmPhenoAge, DNAmGrimAge в группе пациентов с ТХПН по сравнению с контрольной группой; *- $p < 0,05$; **** - $p < 0,0001$ (критерий Манна-Уитни)

В среднем эпигенетическое возрастное ускорение в группе пациентов с ТХПН составило 3 года. Модель DNAmAgeHannum показала наименьшее ускорение на 0,6 года; самое высокое возрастное ускорение в 7,0 лет было зарегистрировано для модели DNAmPhenoAge.

Для характеристики состояния организма в модели ускоренного старения, опираясь на ранее полученные результаты мультиплексного анализа цитокинов, проводили определение уровня 3 биомаркеров, ассоциированных со старением и выбранной патологией: FGF21, GDF15, CXCL9 (рис.14).

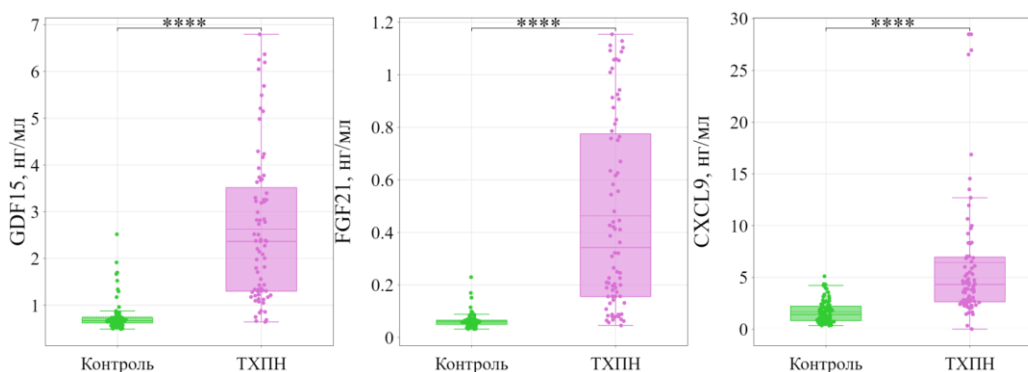


Рис. 14. Результаты определения количественного содержания исследуемых биомаркеров в плазме крови в группах условно здоровых добровольцев и пациентов с ТХПН; **** - $p < 0,0001$ (критерий Манна-Уитни)

В результате было установлено статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение содержания FGF21, GDF15 и CXCL9 в группе пациентов с ТХПН по сравнению с контролем. Уровень митокина GDF15 увеличился в 3,5 раза в группе ТХПН, уровень цитокина CXCL9 в 3,8 раза. Наибольшие различия между группами показаны для FGF21 (увеличение в 7 раз в группе ТХПН). При этом не было выявлено корреляции между концентрацией этих показателей и стажем гемодиализной терапии.

На основе ранее разработанной регрессионной модели биологического возраста по 3 биомаркерам крови (Age-Estimation Clock) было показано, что группа пациентов с ТХПН значительно увеличила возрастную акселерацию, в среднем до 75 лет (рис. 15).

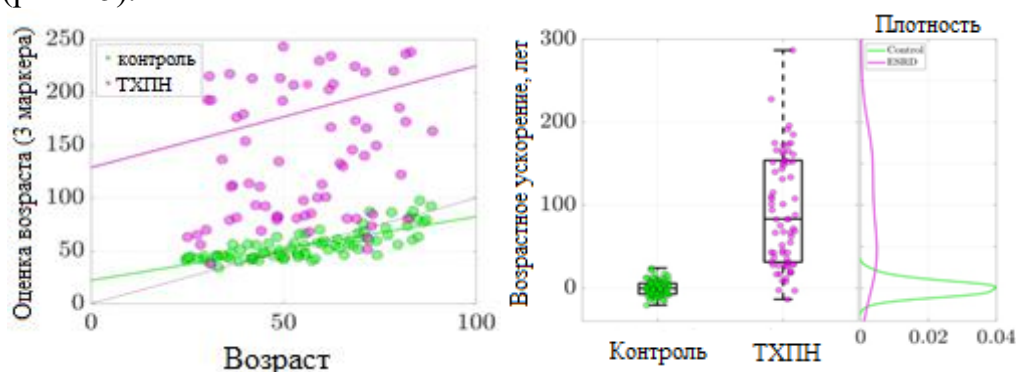


Рис. 15. Часы оценки возраста (Age-Estimation Clock) в контрольной группе и группе пациентов с ТХПН

Разделение группы пациентов по исходу заболевания (живые/умершие) показало достоверно значимое ($p < 0,05$) увеличение содержания FGF21 в группе ТХПН с неблагоприятным годичным прогнозом выживаемости. Несмотря на свою прогностическую ценность при ТХПН, концентрация FGF21 не коррелирует с эпигенетическим или фенотипическим возрастом, а также не связана с возрастной акселерацией. Значительных различий в темпах возрастного ускорения между группами с различными исходами заболевания выявлено не было.

При анализе годового прогноза выживаемости у умерших пациентов было обнаружено значительное увеличение возраста и возрастное ускорение по разработанным на основе 3 биомаркеров часам оценки возраста (рис. 16).

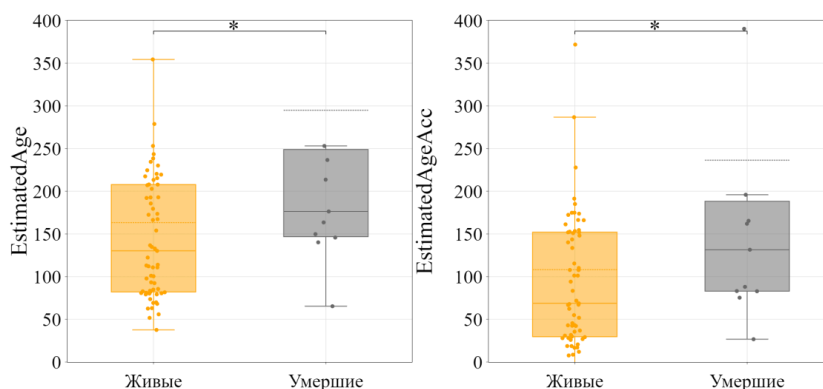


Рис. 16. Часы оценки возраста (Age-Estimation Clock) в группе живых и умерших пациентов; *- $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни)

Выявление иммунологических маркеров ускоренного старения при ТХПН

В результате проведенных исследований выявлено 18 показателей (рис. 17), достоверно различающихся между группой пациентов с ТХПН и контролем.

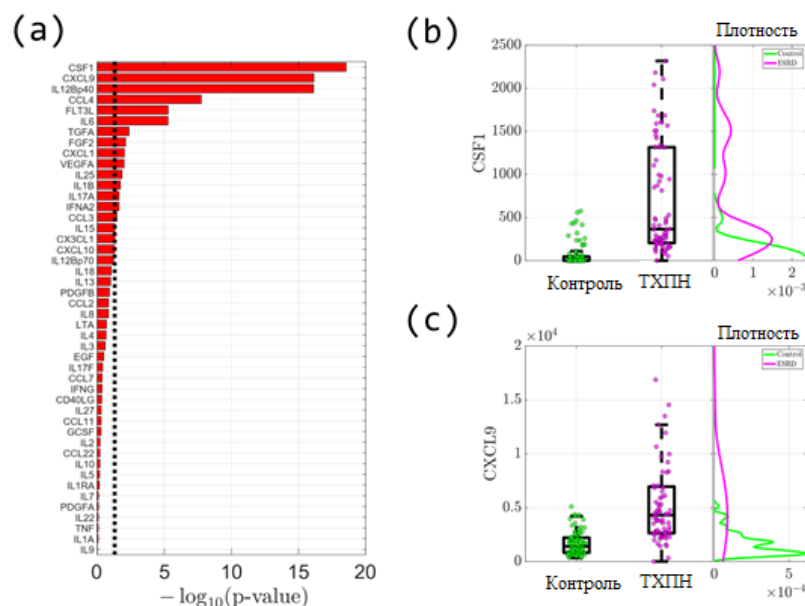


Рис. 17. Иммунологические маркеры, ассоциированные с ТХПН (а) Значение p-value критерия Манна – Уитни, которое определяет достоверную разницу значений биомаркеров между группами. Пунктирная линия соответствует значению $p=0,05$. (b), (c) – распределение биомаркеров с наибольшей ассоциацией с ТХПН CSF1 и CXCL9

Наиболее сильная связь с заболеванием показана для таких маркеров как CSF1, CXCL9 и IL12Bp40, на рисунке 17 продемонстрированы примеры неоднородности распределения первых двух биомаркеров в контрольной группе и группе пациентов с ТХПН. Важным является факт идентификации показателей, которые долгое время не считались основными маркерами воспаления.

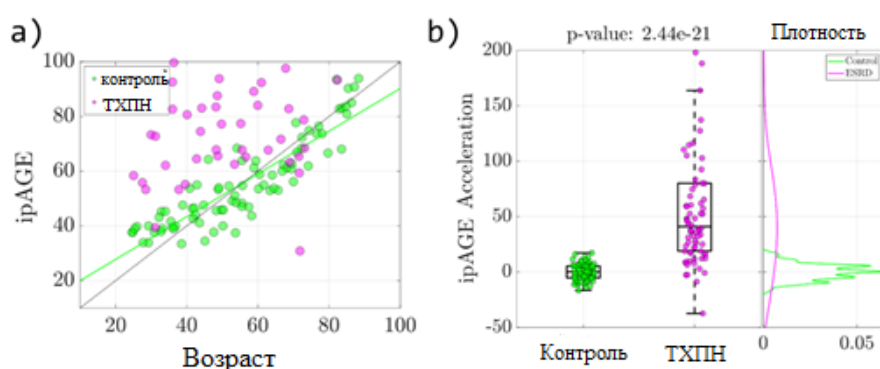


Рис. 18. (а) Связь между ipAGE и хронологическим возрастом; (b) ускорение ipAGE у контрольной группы и субъектов с ТХПН

Таким образом, для группы пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности показана возрастная акселерация на фоне хронического воспаления и смещения биохимических маркеров нарушения гомеостаза. Перечисленные выше факторы вовлечены в формирование фенотипа ускоренного старения, характерного для пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности.

ВЫВОДЫ:

1. Выявлено достоверно значимое увеличение возрастной акселерации фенотипического и эпигенетического возраста (модель DNAmGrimAge) в группе мужчин ($2,2 \pm 0,7$ лет) относительно женщин ($-2,0 \pm 0,4$ года).
2. Обнаружены генетические особенности в группе долгожителей: частота делеций хромосом увеличивается с возрастом, однако в группе долгожителей обнаружена отрицательная корреляционная связь между частотой делеций и хронологическим возрастом. Общая частота aberrаций и парных разрывов в группе долгожителей выше, чем в контрольной группе. Полиморфизм R3500Q гена APOB (аполипопротеина В) отсутствует в группах долгожителей и потомков долгожителей.
3. Носители гетерозиготного варианта полиморфизмов COL1A1 и MMP9 ассоциированы с благоприятным прогнозом для функционирования сердечно-сосудистой системы. Выявлено отрицательное значение акселерации биологического возраста в модели PhenoAge среди гетерозиготных носителей аллеля полиморфизма MMP9.
4. Показано достоверно значимое ($p < 0,05$) увеличение содержания митокинов и цитокинов (FGF21, GDF15 и CXCL9), ассоциированных с возрастной акселерацией в плазме крови пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. Установлена возрастная акселерация по основным типам определения биологического возраста у пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности по сравнению с условно здоровыми добровольцами. Неблагоприятный годичный прогноз выживаемости связан с достоверным ($p < 0,05$) увеличением содержания FGF21 в группе пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности.
5. Психофизиологическая модель комплексных маркеров старения организма человека включает 24 показателя сенсомоторной активности и цветоразличения.
6. Персонализация детектирования возраст-зависимых изменений обеспечивается благодаря интеграции выявленных физиологических параметров (биохимических, иммунологических, эпигенетических и психофизиологических).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Yusipov I.I.,* **Kondakova E.V.**,* Kalyakulina A.I., Krivonosov M.I., Lobanova N.A., Bacalini M.G., Franceschi C., Vedunova M.V., Ivanchenko M.V. Accelerated epigenetic aging and inflammatory/immunological profile (ipAGE) in patients with chronic kidney disease. *GeroScience*. 2022. P.35237926. doi:10.1101/2021.07.23.453588
2. **Kondakova E.V.**, Vershinina O.S., Lopatenko M.V., Franceschi C., Ivanchenko M.V., Vedunova M.V. Sex-Specific Age-Related Changes in Methylation of Certain Genes. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2021. V.13, №3. P. 26-31. doi: 10.17691/stm2021.13.3.03.
3. **Kondakova E.V.**, Kashitsyna E. A., Kalinnikova L.A., Gamova O.N., Vedunova M.V. Features of Karyotype Changes in Centenarians // *Opera Medica et Physiologica*. 2020. V. 7, № 3. P. 10-16. doi: 10.24411/2500-2295-2020-10006.
4. Krysko O., **Kondakova E.**, Vershinina O., Galova E., Blagonravova A., Gorshkova E., Bachert C., Ivanchenko M., Krysko D.V., Vedunova M. Artificial Intelligence Predicts Severity of COVID-19 Based on Correlation of Exaggerated Monocyte Activation, Excessive Organ Damage and Hyperinflammatory Syndrome: A Prospective Clinical Study // *Front Immunol*. 2021. V. 27; P. 12:715072. doi: 10.3389/fimmu.2021.715072.

Материалы конференций:

5. **Kondakova E.V.**, Vershinina O.S., Ivanchenko M.V., Vedunova M.V. Sex-specific age-related changes in methylation of certain genes // *FEBS Open Bio*. 103–507. 2021. P. 139.
6. **Kondakova E.V.**, Lobanova N.A., Yusipov I.I., Ermakova L.M., Ivanchenko M.V., Vedunova M.V. Biochemical and immunological markers of accelerated aging in patients with end-stage renal disease // Conference proceedings 3rd International Conference Volga Neuroscience Meeting 2021 (Nizhny Novgorod, «Chayka» Resort Hotel August 24-27, 2021). Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (UNN). 2021. P. 119.
7. Krivonosov M.I., **Kondakova E.V.**, Ivanchenko M.V., Vedunova M.V. Biological age prediction based on cognitive quantifiers // Conference proceedings 3rd International Conference Volga Neuroscience Meeting 2021 (Nizhny Novgorod, «Chayka» Resort Hotel August 24-27, 2021). Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (UNN). 2021. P. 120.
8. **Кондакова Е.В.**, Грачева Е.А., Кривоносов М.И. Разработка критериев определения биологического возраста человека на основе биохимических показателей крови // Сборник научных трудов VI съезда биофизиков России. Краснодар: 2019. Т.1. С.350.
9. **Кондакова Е.В.**, Лопатенко М.В., Вершинина О.С. и др. Гендер-зависимые возраст-обусловленные изменения метилирования некоторых генов // XXI Зимняя молодежная школа по биофизике и молекулярной биологии. 2020. С. 114-115.
10. **Кондакова Е.В.**, Лобанова Н.А., Иванченко М.В. и др. Исследование биологического возраста у пациентов с хронической почечной недостаточностью,

находящихся на гемодиализе // 73-я всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление». Н. Новгород: Университет Лобачевского. 2020. С.105.

11. Предеина И.В., **Кондакова Е.В.**, Ведунова М. В. Частота встречаемости однонуклеотидных полиморфизмов генов MMP9 (rs17576), MMP12 (rs652438), COL1A1_1 (rs1107946) среди долгожителей // 73-я всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление». Н. Новгород: Университет Лобачевского. 2020. С.172.

12. Кашицына Е.А., **Кондакова Е.В.**, Гамова О.Н., Ведунова М.В. Определение уровня возраст-индуцированных изменений кариотипа в выборке нижегородских долгожителей // 73-я всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление». Н. Новгород: Университет Лобачевского. 2020. С.96.

13. **Кондакова Е.В.**, Романенко А.М., Павловский А. В., Лобанова Н.А., Ведунова М.В. Физиологические маркеры ускоренного старения у больных с хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе // Тезисы докладов 74-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых, посвященной памяти проф. А.П. Веселова (Н.Новгород, 20–23 апреля 2021 г.). Н.Новгород, Университет Лобачевского. 2021. 261 с. С. 116.

14. Кривоносов М.И., **Кондакова Е.В.**, Юсипов И.И., Ведунова М.В., Иванченко М.В. Сравнение моделей оценки биологического возраста на основе когнитивного статуса // Тезисы докладов 74-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых, посвященной памяти проф. А.П. Веселова. Н.Новгород, Университет Лобачевского. 2021. 261 с. С.123.

15. **Кондакова, Е.В.**, Лобанова, Н.А., Юсипов, И.И., Иванченко, М.В., Ведунова, М.В. Ускоренное старение у пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек, находящихся на гемодиализе // Тезисы VII съезда физиологов СНГ с международным участием. Сочи-Дагомыс, Издательство «Перо», 2021. 165 с. Т.1. С. 130

16. Ильина В.М., **Кондакова Е.В.**, Корсакова Д.О., Ермакова Л.М., Кучин К.В., Ведунова М.В. Влияние однонуклеотидных полиморфизмов генов MTHFR, COL1A1, APOB на показатели морфофункционального состояния стенки сосудов // Тезисы докладов 75-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 19–22 апреля 2022 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского. 2022. 272 с. С. 87.

17. Ильина В.М., **Кондакова Е.В.** Частота встречаемости однонуклеотидных полиморфизмов генов APOB (rs5742904), MTHFR (rs1801131), COL1A1 (rs1107946), MMP9 (rs17576), MMP12 (rs652438) среди долгожителей и их потомков // Актуальные проблемы биомедицины – 2022: Материалы XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием, Санкт-Петербург, 24-26 марта 2022 г. / Отв. ред. Т.Д. Власов. СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2022. 446 с. С 327.

18. Кривоносов М. И., **Кондакова Е. В.**, Ведунова М. В., Иванченко М. Выявление возраст-ассоциированных паттернов когнитивного поведения индивидуумов // Тезисы докладов 75-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых (Н. Новгород, 19–22 апреля 2022 г.). Н. Новгород, Университет Лобачевского. 2022. 272 с. С. 117.