

ОСОБЕННОСТИ СТАРЕНИЯ КРОВИ ЯВАНСКИХ МАКАК

Сухих А. А.¹,
Жукова Д. С.²,
Карал-оглы Д. Д.²,
Клюц И. Н.²,
Злобина А. П.²,
Акулов А. П.¹,
Терещенко В. П.¹
Рыбцов С. А.¹

¹ Научно-технологический “Университет “Сириус”.

² Курчатowski комплекс медицинской приматологии.

PECULIARITIES OF BLOOD AGING IN MACACA FASCICULARIS

Sukhikh A. A. ^a,
Jukova D. S. ^b,
Karal-ogly D. D. ^b,
Klotz I. N. ^b
Zlobina A. P. ^b,
Akulov A. P. ^b,
Tereshchenko V. P. ^a,
Rybtsov S. A. ^a

^a Sirius University of Science and Technologies.

^b Kurchatov Complex of Medical Primatology.

Резюме

Введение. Исследование старения кроветворной системы у неантропоидных приматов, таких как яванский макак, предоставляет уникальную возможность для понимания эволюционно- консервативных механизмов старения человека и изучения возрастной динамики основных клеточных и биохимических показателей крови. Эти данные могут быть полезны для оценки результатов доклинических исследований на животных различных возрастных групп. Старение иммунной системы сопровождается нарушением функции отдельных клеток и изменением представленности популяций в циркулирующей крови. Несмотря на схожесть количественных показателей, возрастная динамика клеток крови у человека и яванского макака имеют различия.

Целью данного исследования было провести сравнительный анализ возрастных изменений клеточного состава крови и биохимических показателей крови у доноров и макаков яванских.

Материал и методы. В исследования были включены группы животных в возрасте 4-9 лет, а также уникальная группа старых особей в возрасте 18-27 лет. Дополнительно были исследованы образцы крови, полученные от доноров-добровольцев различных возрастных групп (20-30, 31-56 и 57-85 лет). Были проанализированы абсолютные показатели содержания клеток крови у доноров и макаков, был проведен биохимический анализ крови у макаков разных возрастных групп и проведен сравнительный анализ старения крови человека и макаков.

Результаты и выводы. В данном исследовании у макаков было зафиксировано снижение количества тромбоцитов с возрастом, что указывает на снижение продукции мегакариоцитов и их предшественников в костном мозге. Старение яванского макака также сопровождалось достоверным повышением уровня триглицеридов и глобулинов в крови, а также тенденцией к снижению уровня альбумина, что привело к уменьшению соотношения общего альбумина к глобулинам. Этот показатель у человека связан с общим состоянием здоровья и его снижение наблюдается с возрастом. У самцов и самок также наблюдается тенденция к повышению уровня глюкозы, билирубина, холестерина и

воспалительных ферментов с возрастом. Уровень креатинина был значительно выше у самцов независимо от возраста и превышал уровень этого показателя у самок.

Ключевые слова: макака яванская, периферическая кровь, гематологические показатели, биохимические показатели, старение, гемапоз.

Abstract

Introduction. The study of hematopoietic system aging in non-anthropoid primates such as the *Cynomolgus* macaque (*Macaca fascicularis*) provides a unique opportunity to understand the evolutionarily conserved mechanisms of human aging and to study the age-related dynamics of the main cellular and biochemical parameters of the blood. This data are useful for evaluating the results of preclinical studies on animals of different age groups. Aging of the immune system is accompanied by impaired cellular function and changes in the representation of populations in the circulating blood. Despite the similarity of quantitative indices, the age-related dynamics of blood cells in humans and the *Cynomolgus* macaque differ.

The aim of the study was to conduct a comparative analysis of age-related changes in the cellular composition of blood and biochemical parameters of cynomolgus macaques and human donors blood.

Material and methods. This study included groups of animals aged 4-9 years, as well as a unique group of old individuals aged 18-27 years. In addition, blood samples obtained from volunteer donors of different age groups (20-30, 31-56 and 57-85 years) were analyzed. Absolute blood cell counts in donors and macaques were analyzed, biochemical blood analysis was performed in macaques of different age groups, and a comparative analysis of blood aging in humans and macaques was conducted.

Result and conclusions. In this study, macaques showed a decrease in platelet count with age, indicating a decrease in the production of megakaryocytes and their precursors in the bone marrow. Aging in *Cynomolgus* macaques was also accompanied by a significant increase in triglyceride and globulin levels in the blood, as well as a trend toward a decrease in albumin levels, which decreased the total albumin to globulin ratio. This indicator in humans is associated with overall health and its decrease is observed with age. In males and females, there is also a trend toward an increase in glucose, bilirubin, cholesterol, and inflammatory

enzymes with age. Creatinine levels were significantly higher in males regardless of age and exceeded this indicator in females.

Keywords: *Macaca fascicularis*, peripheral blood, hematological parameters, biochemical parameters, aging, haematopoiesis.

1 Введение

Неантропоидные приматы старого света являются близкими родственниками человека, и используются в доклинических исследованиях для моделирования патологических состояний человека и отработки методов лечения. Результаты исследований, полученные на неантропоидных приматах, являются крайней линией проверки лекарственных препаратов до перехода к клиническим испытаниям на человеке. Проведение исследований на лабораторных животных требует получения базовых (фоновых) значений основных клинических параметров, в первую очередь гематологических и биохимических, у животных разных возрастных групп. Опираясь на эти исходные данные, возможно контролировать динамику их изменения в ходе эксперимента и оценивать последствия применения изучаемых препаратов и методик. В ходе работы были проведены общий анализ крови, биохимический анализ крови и статистическая обработка результатов с целью выявления динамики возрастных и половых различий. В научной литературе достаточно хорошо изучены гематологические и биохимические параметры яванских макак [1-4]. Однако, практически отсутствуют данные по старым животным (более 15 лет). Продолжительность жизни яванского макака наиболее популярного в доклинических исследованиях в неволе составляет около 30 лет. Сравнение групп молодых и старых животных позволяет выявить основные признаки старения гемопоэтической системы. Полученные сравнительные результаты человека и яванского макака позволяют понять эволюционно-консервативные механизмы старения гемопоэтической системы приматов, найти индикаторы старения, и разработать подходы к оценке последствий лекарственных интервенций на здоровье и старение животных.

Материалы и методы

Периферическую кровь отбирали у доноров-добровольцев различных возрастных групп, после получения добровольного информированного согласия, следуя протоколу одобренному комитетом по биоэтике

31 Университета Сириус (от 06.03.2023). Также отбирали кровь у яванских макак
32 (*Macaca fascicularis*) из поверхностной бедренной вены согласно одобренному
33 этическому разрешению Курчатовского комплекса медицинской
34 приматологии (№ 02-3пр от 21.03.2024). Анализ гематологических параметров
35 (для доноров- добровольцев и приматов) проводили на гематологическом
36 анализаторе MEK-7300K, Nihon Kohden, Japan. Анализ биохимических
37 параметров (для приматов) проводили на анализаторе Biolit-8020, China,
38 согласно протоколам производителей.

39 В исследования были вовлечены две группы животных 4-9 лет и 18-27
40 лет обоих полов. Все животные были рождены в питомнике ФГБНУ «Научно-
41 исследовательский институт медицинской приматологии» (сейчас
42 Курчатовский Комплекс Медицинской Приматологии). Во время работы в
43 НИИ медицинской приматологии исследование было одобрено биоэтическим
44 комитетом НИИ медицинской приматологии , протокол № 83 от 18 марта 2022
45 г.) и проводилось в соответствии с требованиями Международной ассоциации
46 по оценке и аккредитации ухода за лабораторными животными в соответствии
47 с требованиями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных,
48 используемых для экспериментов или иных целей, ETS№123 и Директивы
49 №2010/63/EU, принятой Европейским Парламентом 22 сентября 2010 г. Все
50 макаки, включенные в исследование, были признаны клинически здоровыми
51 на основании регулярных ветеринарных осмотров и тестов на туберкулез и
52 вирус герпеса В, а также в соответствии с предыдущими записями.

53 Для выявления возрастных изменений в системе крови были
54 проанализированы данные общего анализа 3 возрастных групп условно-
55 здоровых доноров: 20-30 лет (медиана 23 года, 11 женщин, 5 мужчин), 31-56
56 лет (медиана 41 год, 3 женщины, 5 мужчин), 57-85 лет (медиана 61 год, 8
57 женщин, 4 мужчин); и 2х возрастных групп яванских макак: 4-9 лет
58 (соответствует 13,2-33,3 человеческим годам, медиана 6 лет, 7 самок, 7
59 самцов), 18-27 лет (соответствует 57-89 человеческим годам, 3 самки, 3 самца).

Статистическую обработку и визуализацию данных проводили в программе GraphPad Prism с использованием двухфакторного дисперсионного анализа с множественными сравнениями Сидака.

Питание животных

Все животные содержались в питомнике Курчатовского комплекса медицинской приматологии в индивидуальных или семейных клетках при температуре окружающей среды (21–28 °C); относительной влажности 40–70%; естественном световом дне. Санитарные мероприятия проводились в соответствии законодательством Российской Федерации. Доступ к свежей воде для животных обеспечивался через центральное водоснабжение в соответствии с государственными нормами: СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 1.2.3685-21, Роспотребнадзор, Российская Федерация. Периодически проводились анализы проб воды на загрязнение. Рацион животных был сбалансирован по белкам, жирам, витаминам и углеводам. По составу корм содержал пищевые волокна, состоял из полнорационного комбикорма, фруктов, овощей, рисовой каши с изюмом, печенья, брикетированного корма согласно средним нормам потребления кормов. Кормление животных осуществлялось три раза в день: 8:00–9:00 — гранулированный сбалансированный корм; 11:00–12:00 — сочный корм (фрукты, овощи), рисовая каша, печенье; с 14:00 до 15:00 гранулированный сбалансированный корм (согласно местным нормативам: SOP AC 11 Кормление обезьян, содержащихся в индивидуальных клетках).

Результаты и обсуждение

При исследовании данных общего анализа крови условно-здоровых доноров и яванских макак выявлено статистически значимое (Рисунок 1) снижение количества эритроцитов у мужчин возрастной группы 57-85 лет по сравнению с группой 20-30 лет, увеличение моноцитов у женщин возрастной группы 31-57 лет по сравнению с группой 20-30 лет, увеличение гемоглобина у женщин возрастной группы 57-85 лет по сравнению с группой 20-30 лет. Все эти показатели были индивидуальны для человека и схожей тенденции не

наблюдалось у яванских макак. У самок макака яванского выявлено снижение тромбоцитов в группе 18-27 лет по сравнению с группой 4-10 лет.

Однако, по общему анализу крови количество форменных элементов крови у яванских макак в целом схоже с таковым у человека, однако, возрастная динамика не совпадает с таковой у человека (Рисунок 1). Были выявлены некоторые отличия: так у макак больше лейкоцитов и лимфоцитов и меньше моноцитов, нейтрофилов и эозинофилов. У обоих видов наблюдается половой диморфизм показателей крови.

В ходе дальнейшей работы были исследованы, биохимические показатели крови, сопровождающие старение яванских макак (Рисунок 2). Так, обнаружено достоверное повышение уровней триглицеридов и глобулина у самок макак в возрасте 18-27 лет по сравнению с группой самок 4-9 лет, такая же тенденция наблюдается у самцов. У самцов в возрасте 18-27 лет соотношение общего альбумина/глобулина значительно ниже чем у самцов 4-9 лет, снижение этого показателя у самок наблюдали на уровне тенденции (Рисунок 2). Сравнение биохимических показателей выявило достоверные половые отличия в уровнях креатинина у самцов и самок разных возрастных групп. Так, уровень креатинина у самцов яванских макак во всех возрастных группах было достоверно выше, чем у самок в тех же возрастных группах. Других достоверных различий в биохимических показателях крови не выявлено. В тоже время у самцов и самок прослеживается тенденция к повышению глюкозы, билирубина, холестерина и воспалительных ферментов с возрастом.

Выводы

В результате проведенного исследования были выявлены достоверные вариации в уровнях ряда показателей общего и биохимического анализов крови.

Наблюдалось снижение количества эритроцитов у мужчин возрастной группы 57-85 лет по сравнению с группой 20-30 лет, увеличение моноцитов у

120 женщин возрастной группы 31-57 лет по сравнению с группой 20-30 лет,
121 увеличение гемоглобина у женщин возрастной группы 57-85 лет по сравнению
122 с группой 20-30 лет.

123 У яванских макак наблюдалось снижение тромбоцитов у самок
124 возрастной группы 18-27 лет.

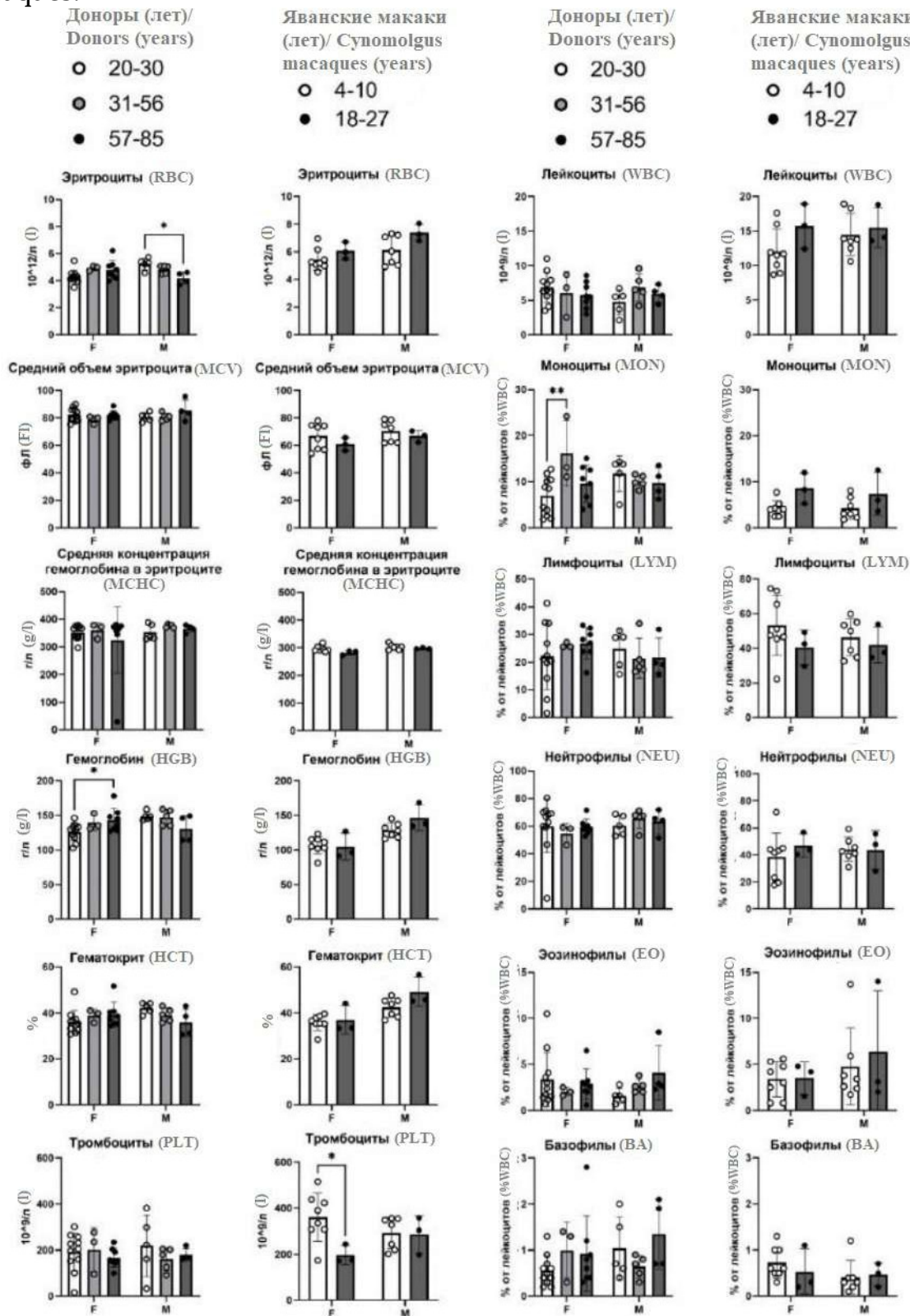
125 Уровни триглицеридов и глобулина у самок макак разных возрастных
126 групп повышаются с возрастом. У самцов макак с возрастом снижается
127 соотношение общего альбумина и глобулина. У самцов макак возрастных групп
128 4-9 лет и 18-27 лет уровень креатинина выше чем у самок макак этих
129 возрастных групп.

130 *Финансирование:* Исследование выполнено при поддержке Российского
131 научного фонда (проект № 23-15-00443; <https://rscf.ru/project/23-15-00443/>)

РИСУНКИ

Рисунок 1. Данные общего анализа крови условно-здоровых доноров и яванских макак.

Figure 1. Complete blood count data from healthy donors and *Cynomolgus* macaques.

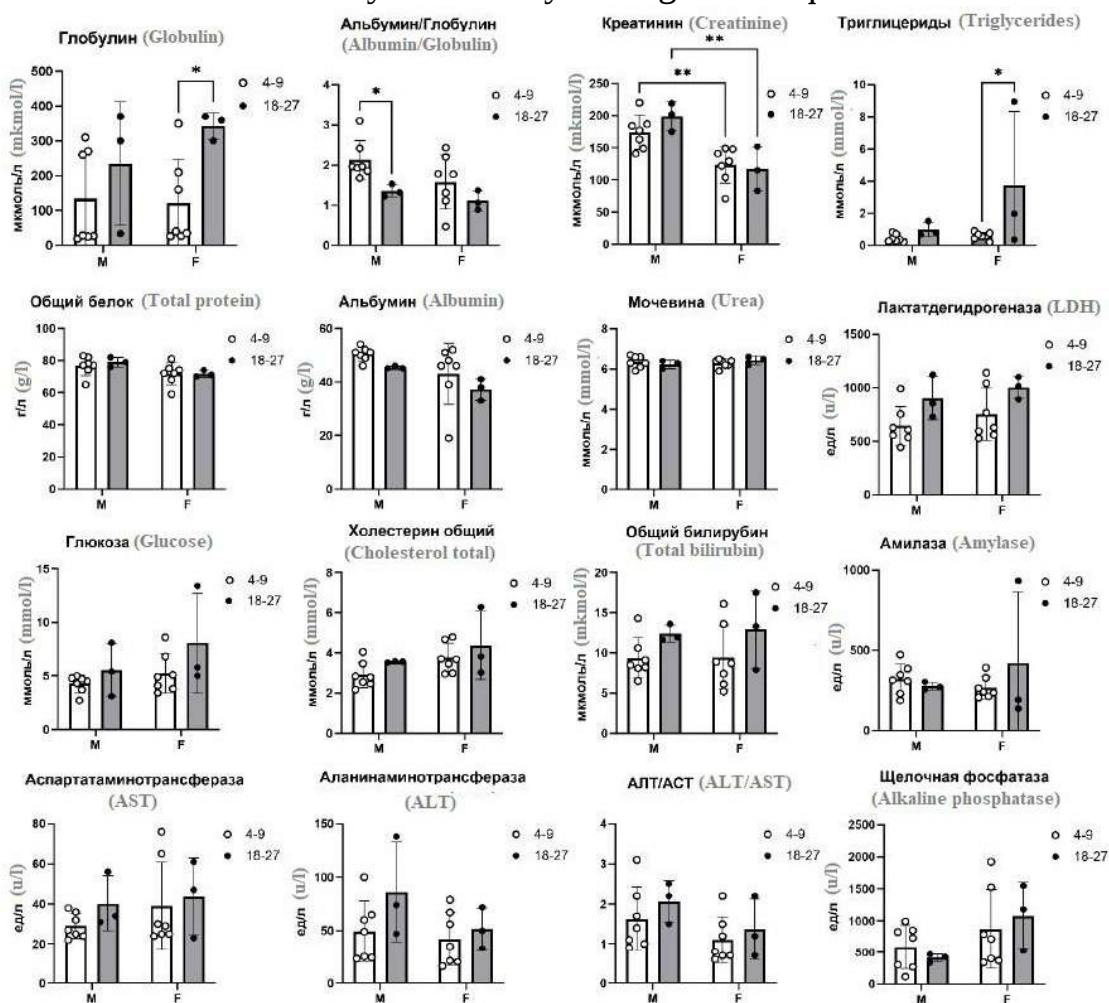


F-женщины и самки макак, соответственно, М – мужчины и самцы макак. Условно-здоровые доноры: 20-30 лет (медиана 23 года, 11 женщин., 5 мужчин), 31-56 лет (медиана 41 год, 3 женщины, 5 мужчин), 57-85 лет (медиана 61 год, 8 женщин, 4 мужчин); Яванские макаки: 4-9 лет (соответствует 13,2-33,3 человеческим годам, медиана 6 лет, 7 самок, 7 самцов), 18-27 лет (соответствует 57-89 человеческим годам, 3 самки, 3 самца). Представлены средние и стандартные отклонения. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ двухфакторный дисперсионный анализ с множественными сравнениями Сидака.

F – female and female macaques, respectively, M – male and male macaques. Healthy donors: 20-30 years (median 23 years, 11 women, 5 men), 31-56 years (median 41 years, 3 women, 5 men), 57-85 years (median 61 years, 8 women, 4 men); Cynomolgus macaques: 4-9 years (corresponds to 13.2-33.3 human years, median 6 years, 7 females, 7 males), 18-27 years (corresponds to 57-89 human years, 3 females, 3 males). Means and standard deviations are shown. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ two-way ANOVA with Sidak's multiple comparisons.

Рисунок 2. Данные биохимического анализа крови яванских макак.

Figure 2. Blood biochemistry data for Cynomolgus macaques.



F- самки макак, М – самцы макак. Яванские макаки: 4-9 лет (соответствует 13,2-33,3 человеческим годам; 7 самок, 7 самцов), 18-27 лет (соответствует 57-89 человеческим годам; 3 самки, 3 самца). Представлены средние и стандартные отклонения. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ двухфакторный дисперсионный анализ с множественными сравнениями Сидака.

F - female macaques, M - male macaques. Cynomolgus macaques: 4-9 years (equivalent to 13.2-33.3 human years; 7 females, 7 males), 18-27 years (equivalent to 57-89 human years; 3 females, 3 males). Means and standard deviations are shown. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ two-way ANOVA with Sidak's multiple comparisons.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Сухих Артём Александрович, специалист- исследователь;

Научно-технологический Университет “Сириус”;

адрес: Россия, Краснодарский край, г. Сочи, пгт Сириус, Олимпийский
проспект 1;

телефон: 8(800)100-41-55, 4710;

e-mail: suhih.aa@talantiuspeh.ru

Sukhikh Artjom Aleksandrovich, researcher. Sirius University of Science and
Technology;

address: 354340; Russia, Krasnodar Region, Sochi, Sirius, Olympic Avenue 1;

telephone: 8(800)100-41-55, 4710;

e-mail: suhih.aa@talantiuspeh.ru

Блок 2. Информация об авторах

Жукова Дарья Сергеевна, заведующий клинико-ветеринарным отделением;

Jukova Darya Sergeevna, head of veterinary department;

Карал-оглы Джина Джинаровна, к.б.н., руководитель отдела доклинических
исследований;

Karal-ogly Dzhina Dzhinarovna, Ph.D., head of preclinical department;

Клоц Игорь Наумович, к.б.н, ведущий научный сотрудник;

Klotz Igor Naumovich, Ph.D., senior scientist;

Злобина Анастасия Павловна, лаборант;

Zlobina Anastasia Pavlovna, technician;

Акулов Александр Петрович, старший лаборант;
Akulov Aleksandr Petrovich, senior technician;

Терещенко Валерий Павлович, к.м.н., старший научный сотрудник;
Tereshchenko Valeriy Pavlovich, Ph.D., senior researcher;

Рыбцов Станислав Александрович, к.б.н., Руководитель ресурсного центра клеточных технологий и иммунологии,
Rybtsov Stanislav Aleksandrovich, Ph.D., head of the Resource Center for Cell Technologies and Immunology.

Блок 3. Метаданные статьи

ОСОБЕННОСТИ СТАРЕНИЯ КРОВИ ЯВАНСКИХ МАКАК
PECULIARITIES OF BLOOD AGING IN MACACA FASCICULARIS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
ОСОБЕННОСТИ СТАРЕНИЯ КРОВИ МАКАК
MONKEY BLOOD AGING

Ключевые слова: макака яванская, периферическая кровь, гематологические показатели, биохимические показатели, старение, гемопоэз.

Keywords: Macaca fascicularis, peripheral blood, hematological parameters, biochemical parameters, aging, haematopoiesis.

Иммунологические чтения в Челябинске 2025.

Количество страниц текста – 5,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 2.

30.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Chen Y., Ono F., Yoshida T. Yoshikawa Y. Relation between body weight and hematological and serum biochemical parameters in female Cynomolgus Monkey (Macaca Fascicularis).Exp.Anim., 2002, v.51, N. 2, p. 125-131	-	https://doi: 10.1538/expanim.51.125
2	Choi K., Chang J., Lee M.-J. et al. Reference values of hematology, biochemistry, and blood type in cynomolgus monkeys from cambodia origin. Lab. Anim. Res., 2016, v. 32, N. 1, p.46-55	-	https://doi: 10.5625/lar.2016.32.1.46
3	Li X, Li D, Biddle KE, Portugal SS, Li MR, Santos R, Burkhardt JE, Khan NK. Age- and sex-related changes in body weights and clinical pathology analytes in cynomolgus monkeys (Macaca	-	https://doi: 10.1111/vcp.13094

	Fascicularis) of Mauritius origin. Vet Clin Pathol. 2022 Sep;51(3):356-375.		
4	Xie L, Xu F, Liu S, Ji Y, Zhou Q, Wu Q, Gong W, Cheng K, Li J, Li L, Fang L, Zhou L, Xie P. Age- and sex-based hematological and biochemical parameters for Macaca fascicularis. PLoS One. 2013 Jun 10;8(6):e64892.	-	https://doi:10.1371/journal.pone.0064892