

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
СЕВЕРО-ЗАПАДНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ИНСТИТУТ БИОРЕГУЛЯЦИИ  
И ГЕРОНТОЛОГИИ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ОНКОЛОГИИ им. Н.Н. Петрова

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES  
GERONTOLOGICAL SOCIETY

RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES  
NORTH-WESTERN BRANCH  
SAINT-PETERSBURG INSTITUTE OF BIOREGULATION  
AND GERONTOLOGY

RUSSIAN FEDERATION MINISTRY OF HEALTH  
N.N. PETROV RESEARCH INSTITUTE OF ONCOLOGY

**V. N. ANISIMOV**

MOLECULAR  
AND PHYSIOLOGICAL  
MECHANISMS  
OF AGING

St. PETERSBURG  
«NAUKA»  
2008

В.Н. Анисимов

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ  
И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ  
МЕХАНИЗМЫ  
СТАРЕНИЯ

Издание второе, дополненное

Санкт-Петербург  
«НАУКА»  
2008

УДК 613.9

ББК 28.03

А67

**Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: В 2 т. — 2-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Наука, 2008. — Т. 1. — 481 с.**

ISBN 978-5-02-026356-7 (Т. 1)

В монографии проанализированы основные концепции о природе старения, история их возникновения и эволюция. Изложены современные представления о молекулярных, клеточных и физиологических механизмах старения, роли повреждений и репарации ДНК, теломер и теломеразы, мутаций и генов, пролиферации и апоптоза в процессах старения и развития ассоциированной с возрастом патологии. Детально освещены такие вопросы, как роль старения в возникновении злокачественного роста, использование мутантных, трансгенных и нокаутных животных в изучении старения и возрастной патологии, эффективность и безопасность применения средств увеличения продолжительности жизни. Уделено внимание биомаркерам и демографическим аспектам старения. Кратко рассмотрены основные этапы, приоритеты и перспективы современного развития геронтологии в мире и России.

Монография представляет интерес для биологов, физиологов, биохимиков, генетиков, врачей всех специальностей, аспирантов и студентов, интересующихся проблемами геронтологии и увеличения продолжительности жизни.

**Anisimov V. N. Molecular and Physiological Mechanisms of Aging. — 2 vol. — 2<sup>nd</sup> ed. — St. Petersburg: Publishing house Nauka, 2008. — Vol. 1. — 481 p.**

ISBN 978-5-02-026356-7 (Т. 1)

The analysis of basic concepts on the origin of aging are given in the monograph. The current data on molecular, cellular and physiological mechanisms of aging, including the role of DNA damage and repair, telomere and telomerase, mutations and gene expression, proliferation and apoptosis in aging and age-associated pathology are critically reviewed. The special attention are paid to relationships between aging and cancer, to the advantages and disadvantages of the using of mutant, transgenic and knockout animals in research on aging and age-associated pathology. The available data on the efficacy and safety of pharmacological interventions on life span are critically reviewed as well as modern approaches to biological age estimation, demographic trends, mathematical and other recent theories in gerontology. The brief view on the state-of-art, priorities and perspectives of fundamental gerontology in the world and in Russia are given as well.

The book is addressed to a wide range of biologists, physiologists, biochemists, geneticist and medical doctors and students who interested in gerontology and life extension.

*Рецензенты:*

акад. *В. П. СКУЛАЧЕВ*, проф. *А. И. ЯШИН*, к. б. н. *А. М. ОЛОВНИКОВ*

*Издание осуществлено при финансовой поддержке  
Российского фонда фундаментальных исследований по проекту 08-04-07005-д*



При оформлении обложки использованы фрагменты картин Густава Климта

ISBN 978-5-02-026327-7  
ISBN 978-5-02-026356-7 (Т. 1)

© В. Н. Анисимов, 2008  
© Издательство «Наука», 2008

## ПРЕДИСЛОВИЕ К 1-му ИЗДАНИЮ

Наш век недолог. Нас немудрено  
Прельстить перелицованным старьем.  
Мы верим, будто нами рождено,  
Все то, что мы от предков узнаем.

*В. Шекспир. 123-й сонет*

В течение последних 160 лет ожидаемая продолжительность жизни в экономически развитых странах постоянно увеличивалась со средней скоростью 3 месяца в год (Оерпен, Vaupel, 2002). Этот феномен, равно как и существенное постарение населения экономически развитых и развивающихся стран, т. е. увеличение в его структуре доли пожилых, ставшее особенно заметным в последней четверти XX века (Schulz-Aellen, 1997; Vaupel et al., 1998; Tinker, 2002; Kalache, Gatti, 2003), вызвали закономерное и значительное увеличение интереса к геронтологии и прежде всего к изучению первичных механизмов старения организмов и популяций и факторов, определяющих продолжительность жизни. Геронтология (греч. *geron*, *geront(os)* — старец + *logos* — учение) — наука, изучающая закономерности старения живых существ, в том числе человека, и старческий возраст. Впервые термин был предложен И. И. Мечниковым в 1903 г. (цит. по: Мечников, 1988) (рис. 1). В «Этюдах оптимизма» Илья Ильич подчеркивал, что изучение старости имеет не только большой теоретический интерес, но в то же время и практическое значение. Современная геронтология — междисциплинарная наука, в состав которой входят биология старения, клиническая геронтология (гериатрия), геронтопсихология и социальная геронтология (геронтогигиена). Термин «гериатрия» ввел в 1909 г. американский врач И. Л. Нашер. В 1914 г. он опубликовал первую в США книгу, озаглавленную «Гериатрия: болезни пожилого возраста и их лечение».

Задача биологии старения — выяснение первичных механизмов старения организмов и популяций, и факторов, определяющих продолжительность жизни. Изучение биологии старения включает как экспериментальные исследования на животных различных видов, так и клинические исследования людей в различные периоды жизни. Задачей клинической геронтологии (гериатрии), динамически развивающейся области современной медицины, является изучение физиологических и патофизиологических особенностей старого человека, особенностей течения патологических процессов и заболеваний и их лечения. Задачей геронтопсихологии является изучение особенностей психики и поведения лиц пожилого и преклонного возраста. Важным разделом геронтопсихологии является поведенческая геронтология, изучающая возрастные изменения поведения живых существ

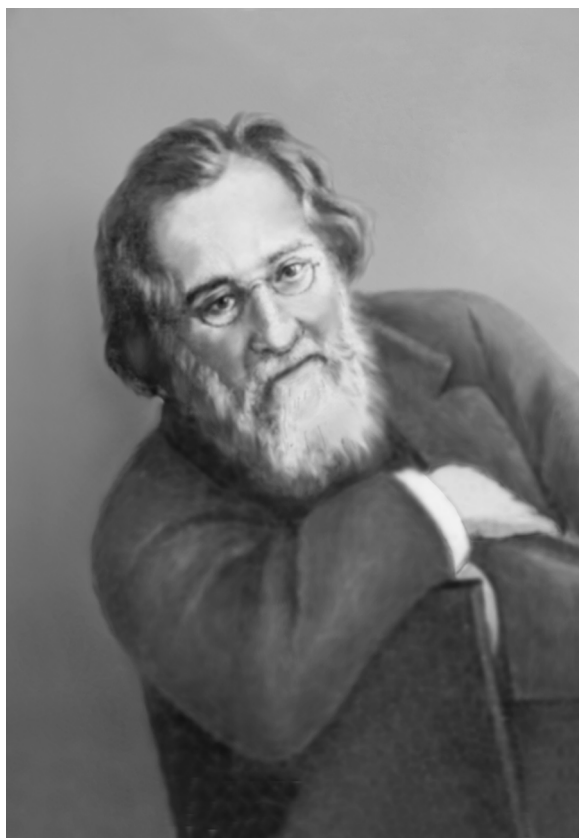


Рис. 1. И. И. Мечников (1845—1916).

разных видов. Задача социальной гигиены (героигиены) — выяснение влияния условий жизни и окружающей среды на старение и продолжительность жизни человека.

Значение геронтологии определяется ее направленностью на решение наиболее фундаментальных вопросов жизни, ее продолжительности и смерти. В течение последних десятилетий наблюдается беспрецедентное внедрение методов молекулярной биологии и геномной инженерии в изучение живой природы, определившие кардинальные изменения в представлениях о природе старения, ставящие на повестку дня вмешательство в генетическую программу развития и старения человека. Существует большое число теорий и гипотез, претендующих на объяснение механизмов старения. Следует, однако, согласиться с мнением Л. Хейфлика (Hayflick, 2000), что любая теория старения должна отвечать по крайней мере на три вопроса.

1) Почему организмы подвергаются прогрессирующему и необратимому уменьшению физиологических функций в последней части своей жизни?

2) Почему ожидаемая продолжительность жизни или скорость старения различаются внутри одного вида и между видами?

3) Почему экспериментальные воздействия, такие как ограничение калорийности питания, замедляют начало многих возрастных физиологических и патологических изменений и увеличивают среднюю и максимальную продолжительность жизни животных?

Полагая, что как генетические факторы, так и факторы окружающей среды могут влиять на процесс старения, следует задаться еще рядом важных вопросов:

4) Влияют ли эти факторы на старение и заболевания, ассоциированные со старением, независимо друг от друга?

5) Увеличивают ли возрастные изменения в организме подверженность болезням или заболевания развиваются независимо и лишь затем усугубляют проявления старения?

Последний из этих вопросов особенно принципиален, поскольку связывает процесс иммортализации (бессмертия) клеток и факторы внутренней и внешней среды, ведущие к развитию новообразований, с процессом старения организма.

И наконец, такой важный вопрос: можем ли мы реально повлиять на старение человека?

Следует подчеркнуть, что термины, используемые для описания процесса старения, довольно неточны, как не существует и общепринятого определения самого старения. В англоязычной литературе используется два термина — *aging* и *senescence*, оба из которых на русский язык переводятся одним словом *старение*. Используя этот термин, мы будем все же иметь в виду, что под старением (*aging*) понимаются изменения, наблюдающиеся в течение жизни, не все из которых обязательно являются неблагоприятными (Finch, 1990). Термином «*senescence*» С. Е. Finch определяет те возрастные изменения в организме, которые неблагоприятно влияют на его жизнеспособность и функции и вызваны течением биологического времени. Другими словами, этот термин определяет старение как дегенеративный процесс. Таким образом, термину *aging* в отечественной литературе обычно соответствует термин *нормальное или физиологическое старение*, тогда как *senescence* определяют обычно как *патологическое старение*.

До настоящего времени предметом дискуссий является вопрос, можно ли разделить эти два процесса, то есть старение без болезней и старение, непосредственно связанное с такими заболеваниями, как рак, болезни сердца и сосудов, остеопороз, остеоартрит, сахарный диабет, и рядом нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и др.). Наиболее существенной попыткой решить этот вопрос непосредственным наблюдением можно назвать продолжающийся уже более 40 лет Балтиморский лонгитудинальный проект по старению (Baltimore Longitudinal Study on Aging, BLSA) Национального института старения США, в рамках которого ведутся регулярные исследования множества параметров у отобранных здоровых индивидуумов (The Aging Factor., 1999). Поскольку возрастная дина-

мика показателей весьма варьирует от индивидуума к индивидууму, практически невозможно оценить «степень старения» отдельного человека, основываясь на измерении одного или нескольких биохимических, физиологических или физических показателей. Следствием этой variability является отсутствие до настоящего времени универсальной батареи тестов для определения биологического возраста, который был бы более надежен, чем хронологический возраст. Другим важным наблюдением BLSA была констатация того факта, что большинство измеряемых показателей изменялось с возрастом постепенно, а не скачкообразно. Это наблюдение позволяет предполагать, что скачкообразные изменения более свойственны развитию ассоциированной с возрастом патологии. Различают по крайней мере два типа такой ассоциации: заболевания, связанные со старением (aging-dependent), и заболевания, связанные с возрастом (age-dependent) (Brody, Schneider, 1986). Так, некоторые генетически детерминированные заболевания (например, болезнь Хантингтона) являются возраст-зависимыми, поскольку проявляются в предсказуемом возрасте и определенно не могут быть названы нормальным старением. Однако возрастные изменения, которые связаны с нормальным старением, могут играть существенную роль в развитии той или иной патологии. Поэтому весьма важно различать возрастные изменения а) не являющиеся патологией (например, поседение волос), б) изменения, которые могут способствовать развитию одного или нескольких патологических процессов (например, накопление оксидативных повреждений) и в) изменения, которые могут вызывать или быть показателем патологических процессов (например, образование амилоидных бляшек в мозге как фактор риска болезни Альцгеймера). Разграничение этих процессов необходимо для определения приоритетов при разработке мер предупреждения преждевременного старения и развития возрастной патологии (The Aging Factor..., 1999).

Не случайно, что Программа ООН по исследованию старения в XXI веке, принятая на Валенсийском геронтологическом форуме (Испания) и утвержденная Всемирной ассамблеей ООН по старению (Мадрид) в апреле 2002 г., большое внимание уделяет биомедицинским приоритетам, направленным на лучшее понимание фундаментальных механизмов старения и факторов долголетия, которые имеют решающее значение для реализации потенциала здорового старения. При этом подчеркивается необходимость понимания механизмов, лежащих в основе старения как такового, а также заболеваний, связанных со старением, и заболеваний, которые им сопутствуют или являются вторичными. Именно на такой основе может быть разработана стратегия профилактики и эффективного лечения разных болезней, свойственных престарелым (в частности, старейшим из старых) (Andrews et al., 2001). По данным Группы оценки сравнительного риска (Ezzati et al., 2003) предупреждение некоторых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, инсульт, инфекция нижних дыхательных путей и пневмония, рак легкого, приведет к увеличению продолжительности жизни в среднем на 9.3 года (на 4.4 года в развивающихся странах и 16.1 года — в наиболее экономически развитых странах).



Таблица 1

Кандидаты на роль «часов» старения

Предполагаемые «часы» старения	Теория, гипотеза
ДНК	Теории «катастрофы ошибок», накопления спонтанных мутаций, маргинотомии
Макромолекулы	Теория «сшивок»
Митохондрии	Свободнорадикальная теория
Клетка	«Лимит Хейфлика»
Половые железы	Инволюция половой функции
Надпочечники	Снижение продукции дегидроэпиандростерона
Щитовидная железа	«Гормон смерти» Денкла
Иммунная система	Иммуностарение
Гипоталамус	Нейроэндокринные теории
Эпифиз	Мелатонин как счетчик внутреннего времени в солнечных часах старения

Всю историю идей и концепций в биологии старения можно вкратце охарактеризовать как историю поисков «часов» старения (Freeman, 1979; Дупленко, 1985; Анисимов, Соловьев, 1999; Анисимов, 2000а). Выбор «часов» определял в общей форме и подход к разработке мер воздействия на механизм этих часов с целью поддержать его эффективность и долговечность (табл. 1).

Естественны желание и необходимость время от времени подводить итоги известному этапу развития науки с тем, чтобы облегчить продвижение вперед путем создания общих концепций. Ярким примером такого рода является книга И. И. Мечникова «Этюды оптимизма» (1907), первое издание которой вышло почти 100 лет тому назад. В предисловии к ней Илья Ильич писал: «Совершенно естественно, что биолог, наблюдающий на себе процесс преждевременной старости, должен остановиться на изучении ее причин. Но не менее очевидно и то, что такое изучение не дает ни малейшей претензии задержать упадок организма, начавшего стариться уже довольно давно». И далее: «...настоящая книга имеет гораздо более в виду молодое поколение, чем то, которое уже подверглось влиянию причин, обуславливающих преждевременную старость. Нам казалось, что опыт людей, которые долго жили и работали, может быть поучительным для молодежи».

В течение бурного XX века в ряде работ отечественных ученых находили отражение те революционные изменения в развитии представлений о природе старения, которые были связаны с открытием ДНК, расшифровкой генетического кода, прогрессом молекулярной биологии, физиологии и медицины в целом. Среди них следует отметить монографии «Геронтология» И. В. Давыдовского (1966), «Регулирование, приспособление и старение» В. В. Фролькиса (1970), «Молекулярные механизмы старения» М. М. Ви-

ленчика (1970), «Молекулярно-генетические механизмы старения» Б. Ф. Ванюшина и Г. Д. Бердышева (1977), руководства «Возрастная физиология» (1975) и «Биология старения» (1982), «Биология продолжительности жизни» Л. А. Гаврилова и Н. С. Гавриловой (1986), «Четыре модели медицины» В. М. Дильмана (1987), «Старение. Эволюция и продление жизни» В. В. Фролькиса и Х. К. Мурадяна (1992).

Происходящая в последнее десятилетие технологическая революция в молекулярной биологии, расшифровка генома дрожжей, бактерий, нематоды, плодовой мухи, мыши и человека открывают новые возможности для изучения генетических основ старения, что в конечном счете позволит разработать средства, улучшающие качество жизни пожилых людей. Главным стимулом создания данной книги является внутренняя потребность автора предпринять попытку синтеза наших знаний по фундаментальной геронтологии. Мы не претендуем на полный охват всех вопросов и фактов, а основное внимание уделили тем направлениям, которые, на наш взгляд, определяют лицо современной геронтологии, основные тенденции ее развития в начале XXI века.

Автор глубоко признателен своим учителям академику РАМН Н. П. Напалкову, который привил ему интерес к науке и экспериментальным исследованиям, за постоянное внимание и поддержку и профессору В. М. Дильману, которому он обязан увлечением геронтологией, а также нынешним и бывшим коллегам и сотрудникам М. А. Забежинскому, И. Г. Попович, А. Я. Лихачеву, К. М. Пожарисскому, В. Б. Окулову, В. А. Александрову, В. Х. Хавинсону, В. Г. Морозову, А. В. Арутюняну, Л. М. Берштейну, Ю. Ф. Боброву, А. Г. Голубеву, М. Н. Остроумовой, С. Ю. Ревскому, Е. В. Цырлиной, L. Balducci, L. S. Birnbaum, W. B. Ershler, C. Franceschi, L. Piantanelli, R. Peto, Y. Touitou, J. Vijg, J. M. Ward и многим другим, без горячих и плодотворных дискуссий с которыми и их помощи было бы невозможно ни выполнение многих исследований за последние 30 лет, результаты которых вошли в эту книгу, ни написание самой книги.

Я благодарен уважаемым рецензентам акад. В. П. Скулачеву и проф. А. И. Яшину за критические и конструктивные замечания и советы.

Издание этой книги было бы невозможно без поддержки Российского фонда фундаментальных исследований и Института демографических исследований Общества им. Макса Планка.

Особая благодарность моим родителям, жене и детям, помощь и поддержка которых позволили мне заниматься наукой.

## *ПРЕДИСЛОВИЕ КО 2-му ИЗДАНИЮ*

Поводами к переизданию этой книги послужили в основном два обстоятельства. Первое издание очень быстро разошлось и его тираж лишь в малой степени смог удовлетворить потребности специалистов и просто интересующихся современным состоянием проблемы. Несмотря на то что за последние годы в России издано значительное число книг по геронтологии и гериатрии, следует отметить, что обобщающих работ, посвященных биологии старения, ее молекулярным и физиологическим аспектам, практически не было опубликовано. В изданном в 2007 г. «Библиографическом справочнике отечественных работ по геронтологии и гериатрии за 1994—2006 годы» такие работы монографического характера практически отсутствуют. Вместе с тем в мировой литературе наблюдается настоящий взрыв публикаций в этой области. Это обстоятельство и побудило автора дополнить книгу новыми данными и восполнить некоторые пробелы, которые стали очевидными после выхода первого издания. В частности, в новое издание мы включили главу «Обзор истории геронтологии» использовав материалы из написанной нами в соавторстве с М. В. Соловьевым книги «Эволюция концепций в геронтологии» (СПб.: Эскулап, 1999). Большинство глав переработано. Часть новых глав «выросла» из сравнительно небольших соответствующих разделов первого издания книги, несколько глав написаны заново. Среди них — глава 19, в которой изложена методика изучения геропротекторного эффекта фармакологических препаратов, разработанная в лаборатории канцерогенеза и старения НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова и отражающая более чем 30-летний опыт лаборатории в этой области. Заметим, что основные положения этого раздела книги вошли в написанную нами в соавторстве с нашими сотрудниками д. м. н. М. А. Забежинским и д. б. н. И. Г. Попович соответствующую главу в вышедшем в США в 2007 г. под редакцией Т. О. Толлефсбола руководстве «Биология старения: методы и протоколы». Глава 20 «Международное сотрудничество» написана совместно с О. Н. Михайловой и А. В. Сидоренко.

В книгу вошли также результаты ряда исследований, выполненных в последние годы в лаборатории канцерогенеза и старения И. Н. Алимовой, И. В. Аникиным, Д. А. Батуриным, П. А. Егорминым, Н. Ю. Заварзиной, Т. С. Пискуновой, А. В. Семенченко, М. Л. Тындык, М. Н. Юровой, а также

полученные в плодотворном сотрудничестве с другими учреждениями. Среди них хотелось бы отметить Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РА МН (В. Х. Хавинсон, О. Н. Михайлова), Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Н. Н. Петрищев, М. В. Дубина, А. В. Панченко, В. С. Михеев, С. А. Мусатов, С. В. Розенфельд), НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург (Э. К. Айламазян, А. В. Арутюнян, И. М. Кветной, Т. И. Опарина, В. М. Прокопенко), Санкт-Петербургский экономико-математический институт РАН (Г. Л. Сафарова), Санкт-Петербургский государственный университет (С. В. Мыльников), Петрозаводский государственный университет (И. А. Виноградова, А. В. Букалев), Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева, Саранск (Н. А. Плотникова, Г. М. Веснушкин), Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург (И. А. Журавин, Е. Д. Бажанова), Санкт-Петербургский медико-социальный гериатрический центр (Э. С. Пушкова, Л. В. Ленская), Институт проблем управления РАН, Москва (А. И. Михальский, В. Н. Новосельцев), Институт вычислительной математики РАН, Москва (А. А. Романюха), Ульяновский государственный университет (А. А. Бутов), Международное агентство по изучению рака, Лион, Франция (Z. Q. Wang), Иерусалимский университет, Реховот, Израиль (I. Zusman), Итальянский национальный центр старения, Анкона (С. Franceschi, M. Provinciali), Геронтологический исследовательский центр Национального института старения США (D. K. Ingram, G. S. Roth, K. Boheler), Университет Дюка, Дюрем, Северная Каролина, США (А. И. Яшин, К. Г. Арбеев, К. Manton), Институт демографических исследований общества им. Макса Планка, Росток, Германия (J. W. Vaupel), Университет Тюбингена, Германия (С. Bartsch, H. Bartsch), Программу по старению ООН (А. В. Сидоренко). Всем им автор глубоко признателен за сотрудничество и неоценимую помощь в работе.

Я глубоко признателен члену-корреспонденту АМН Украины В. В. Безрукову, профессору А. И. Божкову, академику АМН Украины, члену-корреспонденту НАН Украины и РАМН Г. М. Бутенко, академику РАН А. Д. Ноздрачеву, члену-корреспонденту РАМН А. В. Шабалину, опубликовавшим рецензии на первое издание нашей монографии, замечания и пожелания которых мы с благодарностью приняли и учли при работе над вторым ее изданием.

Выражаю также свою искреннюю признательность рецензентам книги академику РАН В. П. Скулачеву, профессору А. И. Яшину, кандидату биологических наук А. М. Оловникову, а также многочисленным читателям, приславшим свои отзывы, за критические замечания и советы.

*Моим учителям  
Николаю Павловичу Напалкову  
и Владимиру Михайловичу Дильману  
посвящаю этот труд*

*Часть I*

**ЭВОЛЮЦИЯ КОНЦЕПЦИЙ В ГЕРОНТОЛОГИИ**



## Глава 1

### ОБЗОР ИСТОРИИ ГЕРОНТОЛОГИИ

Мир — лестница, по ступеням которой  
Шел человек. Мы осязаем то,  
Что он оставил по своей дороге.  
Животные и звезды — шлаки плоти,  
Перегоревшей в творческом огне;  
Все в свой черед служили человеку  
Подножием, и каждая ступень  
Была восстаньем творческого духа.

*Максимилиан Волошин. Путями Каина*

#### 1.1. ВВЕДЕНИЕ

Все относительно: и бред и знание.  
Срок жизни истин: двадцать-тридцать лет.

*Максимилиан Волошин*

Возникновение биологического «стремления» к увеличению продолжительности жизни явилось следствием физических законов, а также того факта, что жизнь на Земле зародилась в виде феномена саморазмножения макромолекул в водном растворе. Уже на уровне макромолекул действовал отбор на увеличение продолжительности их существования, так как «смерть» (распад) и «старение» (повреждение) молекул были неизбежны. Аналогичным образом происходила селекция приспособлений, обеспечивающих достаточно длительное существование у одноклеточных, а затем и у многоклеточных организмов. После возникновения нервной системы и психики биохимические и физиологические приспособления, обеспечивающие поддержание (и увеличение при появлении соответствующего давления естественного отбора) необходимой продолжительности жизни, были дополнены поведенческими инстинктами и механизмами нервной регуляции физиологических процессов. Появление у человека сознания привело к пониманию им факта ограниченности собственного существования во времени (т. е. факта смертности). Это вызвало возникновение коллизии между его биологическим, инстинктивным стремлением к длительному существованию и осознанием невозможности его достижения. У большинства людей это приводило к примирению с фактом смертности. Такое примирение выразилось в возникновении различных защитных психологических механизмов (как правило, культурно опосредованных), одним из которых является вера в посмертное существование. Однако во все времена существовали люди, у которых биологическое в своей основе стремление к долгой жизни (в предельном случае — к бессмертию) было настолько велико, что они не могли смириться с неизбежностью смерти, а их критически и рационально ориентированное мышление было способно к преодолению культурных догм. Поэтому они устремляли свои усилия на поиск путей увели-

чения продолжительности жизни. Первоначально эти поиски велись главным образом в алхимико-мистическом направлении, но постепенно, по мере накопления знаний о живой природе и формирования биологической науки, они трансформировались в научные исследования по продлению жизни.

На этот процесс влияло множество факторов. Сначала важную роль играли наблюдения за теми приспособлениями, которые используются животными для увеличения своей продолжительности жизни. Позднее, по мере формирования биологической науки, ее достижения стали играть определяющую роль в исследованиях по продлению жизни. Эпохальные открытия, смена исследовательских парадигм в биологии (каковыми были возникновение рациональной философии и экспериментальной науки в эпоху Возрождения, создание теории эволюции и открытие других основных биологических законов в середине XIX в., открытие механизмов функционирования биологических макромолекул в 50-х гг. XX в.) приводили к качественным изменениям и в геронтологии. Причем одним из существенных элементов таких изменений было появление нового типа моделей, представляющих геронтологическое знание.

Помимо прогресса в области биологических наук на развитие геронтологии влияли технологические, социальные, экономические и другие процессы. Хотя их действие было разнонаправленным (т. е. они как способствовали развитию геронтологии, так и тормозили его), однако в конечном счете действие биологического стремления к увеличению продолжительности жизни, реализующееся через научные исследования по этой проблеме, привело к такому состоянию знания о механизмах старения, которое позволило вплотную приблизиться к разработке методов, дающих человеку возможность практически не стареть или периодически омолаживаться.

## 1.2. ПЕРИОДИЗАЦИЯ ИСТОРИИ ГЕРОНТОЛОГИИ

Где начало того конца, которым  
оканчивается начало?

*Козьма Прутков. Плоды раздумья*

### 1.2.1. Познание и моделирование

В качестве одного из ведущих критериев для периодизации истории геронтологии может быть рассмотрен факт появления нового типа моделей, применяемых для представления и получения геронтологического знания. Его значимость можно обосновать следующим.

Во-первых, как справедливо указал Н. М. Амосов, «вся эволюция организмов и история человечества связана с информацией и моделями» (Амосов, 1974, с. 151). Поэтому в скрытом виде проблемы, связанные с созданием и исследованием моделей, не могут не быть затронуты в любом истори-



ческом исследовании, рассматривающем развитие биологических наук за большой временной период. Перевод такого рассмотрения из скрытой формы в явную может способствовать большему пониманию закономерностей исторического развития.

Во-вторых, по сути любое знание представляет собой модель реальности, так как любая научная дисциплина всегда имеет дело только с приближенным (т. е. модельным) описанием (Моисеев, 1981, с. 137). При этом процесс познания может быть рассмотрен как процесс построения моделей (Петров, 1969), где построение математической модели означает достижение наивысшей точки индуктивного обобщения экспериментальных данных и теоретических построений (Антомонов, 1977, с. 11). Более того, психика человека, реализующая процесс познания, также представляет собой моделирующую систему (Пушкин, 1971, с. 27—44). Таким образом, выбор данного критерия для описания развития научного знания вполне естественен и находится в русле общего подхода к рассмотрению познания как информационного процесса.

В-третьих, считается, что изменение моделей является одним из ведущих факторов исторического прогресса (Амосов, 1974). И действительно, как будет показано ниже, наиболее существенные изменения в геронтологии, вызванные накоплением эмпирических данных, развитием методологии их анализа (частью которой являются используемые типы моделей) и открытием новых законов, сопровождались появлением нового типа моделей. Наличие такой зависимости позволяет считать выбранный критерий хорошим индикатором революционных перестроек в геронтологии. При этом, однако, следует понимать, что, безусловно, основой ее периодизации являются сами эти перестройки, а изменение типов моделей является лишь одной из их составных частей и служит концентрированным выражением и итогом развития всей системы геронтологического знания. Таким образом, данный критерий помимо общего подхода к познанию природы и ее истории отражает и частный подход — познание закономерностей исторического развития геронтологии.

В-четвертых, применение методов кибернетики исключительно важно для познания живой природы в целом. Вот что писал об этом А. А. Ляпунов: «Основные задачи биологии естественным образом выступают как *характерные кибернетические задачи ... параллелизм проблематики* при изучении *больших систем* и при изучении *живой природы* при более детальном и более полном исследовании позволит представить всю биологию в значительно более цельном виде, чем это делается в настоящее время» (Ляпунов, 1970, с. 186, 226). Еще более радикально высказывание выдающегося отечественного физиолога Н. А. Берштейна: «Биокибернетике суждено стать в дальнейшем не одной из ветвей биологии, а очередной ступенью развития всей биологии в целом» (Бернштейн, 1964). Из всех методов кибернетики именно моделирование является наиболее адекватным методом для изучения сложных систем, каковыми являются большинство биологических систем (Антомонов, 1977). Поэтому, по всей вероятности, как наиболее полное познание феноме-

нов жизни, старения, психики, так и реализация эффективных методов продления жизни будет связана с широким применением технологий компьютерного моделирования. Следовательно, широкое внедрение в геронтологию модельного подхода (в том числе и рассмотрение ее истории с такой точки зрения) представляется весьма актуальным.

Для построения и исследования моделей, представляющих геронтологическое знание, необходимы: 1) соответствующие эмпирические данные (таблицы продолжительности жизни, статистические данные о возрастной динамике причин смерти и т. д.); 2) общие законы биологии, имеющие отношение к геронтологии (т. е. законы, описывающие эволюцию, наследственность, обмен веществ и т. п.); 3) частные законы предметной области, т. е. собственно геронтологические законы (уравнение Гомперца-Мейкема и т. п.); 4) методология моделирования (используемый тип моделей, математические методы, применяемые для их исследования, алгоритмы анализа исходных данных и верификации получаемых результатов и т. п.). Именно эти четыре аспекта, существенные для рассмотрения геронтологии с точки зрения теории моделей, а также методы продления жизни, разработанные в рамках данного набора данных и теорий и при использовании существующей методологии, будут определяющими при рассмотрении исторического развития геронтологии.

Идеальные (т. е. не физические, не натурные) модели разделяют на концептуальные (называемые также дескриптивными, описательными, содержательными, символическими и т. п.) и математические. Главное их отличие состоит в том, что формализм последних позволяет с высокой точностью прогнозировать поведение системы посредством применения математических методов (Бусленко, 1978; Федоров, Гильманов, 1980; Моисеев, 1981).

Концептуальные модели делятся на качественные и количественные (Федоров, Гильманов, 1980). Необходимо отметить, что во многих случаях даже при качественном описании неизбежно использование численных параметров (например, продолжительность жизни выражается в количестве прожитых лет). Однако в данном типе моделей такие параметры не играют существенной роли, к тому же зачастую они являются результатом приближенных оценок или устанавливаются в результате единичных измерений (т. е. не являются достоверными). Поэтому эти модели непригодны для сколько-нибудь значимого количественного анализа. Численные же параметры количественных моделей получаются в результате точных измерений или предварительной обработки большого количества данных, при которой используются статистические методы, являющиеся первым этапом использования математики в биологии (Беркинблит, Гаазе-Рапопорт, 1975). По сравнению с качественными моделями подобные процедуры делают описание биологических систем гораздо более точным (к примеру, по таблицам продолжительности жизни можно с высокой степенью достоверности рассчитать среднюю продолжительность жизни). Однако способ такого описания (концептуальная, слабо формализованная модель) все еще не позволяет применять математические методы для прогнозирования поведения системы.

Математические модели подразделяются на аналитические и имитационные (Федоров, Гильманов, 1980; Геронтология in silico..., 2007). В аналитической модели в качестве описания используются различные функциональные соотношения (алгебраические, интегро-дифференциальные, конечно-разностные и т. п.) или логические условия, допускающие их исследование средствами математического анализа или численными и другими математическими методами. В имитационной модели реализующий ее алгоритм воспроизводит процесс функционирования моделируемой системы во времени через имитацию поведения элементов системы и взаимодействия между ними. По сравнению с аналитическими имитационные модели позволяют решать более сложные задачи, и сейчас они являются наиболее эффективным методом исследования сложных систем. Поскольку термин «имитационный» вне контекста моделирования имеет скорее негативный оттенок и интуитивно непонятен неспециалисту в области моделирования, ниже вместо него будет использоваться термин «кибернетический», так как для построения и исследования имитационных моделей в основном применяются методы кибернетики и в ряде работ имитационные модели действительно называют кибернетическими.

### **1.2.2. Периодизация истории геронтологии с позиции теории моделей**

Обзор представлений о природе, существовавших во времена Античности и Средневековья (История..., 1972), показывает, что геронтология, биология в целом, а также и многие другие области науки находились тогда в стадии формирования. Наблюдения за природными явлениями либо существовали как слабо упорядоченные наборы эмпирических закономерностей, либо обобщались в теории, в основе которых лежали религиозные и философские представления, далекие от реальности. Во многом это может быть объяснено, что стимулом развития науки был не поиск истины, а аксиологические, прагматические мотивы (Торчинов, 1998). Только в отдельных, очень редких случаях система представлений как о природе вообще, так и о живой природе в частности, более или менее правдоподобно отражала реальность, примером чего могут служить работы Аристотеля, которого принято считать основателем биологии как науки (История..., 1972, с. 28) и автором первой попытки создания концептуальной модели организма как целостной системы (Крылов, Морозов, 1984, с. 34—35). Таким образом, в этот период количество знаний о природе, уровень культурного развития общества, а также его интеллектуальный потенциал (количество образованных людей, пытающихся постичь законы природы) были недостаточными для получения истинного знания о природе, для формулировки правильных законов развития материи (некоторые историки называют этот период прото-наукой (Торчинов, 1998, с. 85—86) — по аналогии с этим можно говорить о существовании *протогеронтологии*). Поскольку количественные данные о

явлениях, имеющих отношение к геронтологии, были весьма незначительны, неточны и могли фиксироваться лишь как результаты единичных измерений из-за отсутствия статистических методов (в частности, данные о продолжительности жизни человека и животных фиксировались как отдельные максимальные значения (Грмек, 1964)), относительно используемых моделей этот период может быть назван *качественным периодом*.

Большинство историков считают, что настоящая наука возникла лишь в период Возрождения (Кузнецова, 1996). Тогда сумма знаний, культурный потенциал и потребности технологического развития позволили реализовать рациональным механизмам познания. Это привело к появлению рациональной, критической философии, экспериментальной парадигмы и средств математического анализа — сущностным чертам современной науки. Однако, как видно из биологических воззрений того времени (История..., 1972), сложность биологических феноменов, все еще недостаточный уровень биологического знания не позволили открыть специфические общебиологические законы, а значит в тот период биология (а значит и геронтология) еще не была выделена из естествознания. В основном тогда использовались эмпирические закономерности (т. е. частные законы, не носившие общебиологического характера). Все это, безусловно, препятствовало прогрессу в понимании живой природы, хотя по сравнению с предыдущим периодом объем как биологических данных (в том числе количественных параметров, используемых при описании биологических феноменов), так и найденных эмпирических закономерностей колоссально увеличился. Причем при описании геронтологических данных стали использоваться точные количественные закономерности. Например, при описании возрастной динамики (для составления таблиц продолжительности жизни и т. п.) начали применяться статистические методы (Гаврилов, Гаврилова, 1991), без которых исследование не может быть точным из-за значительной разницы в продолжительности жизни отдельных особей. Поэтому относительно используемых моделей данный период может быть назван *количественным периодом*. Интересно отметить связь между использованием методов статистики для описания природных явлений и статичной картиной мира согласно метафизическим представлениям того времени (История..., 1972, с. 101), а также тот факт, что термин «статистика» был введен английским ученым и политическим деятелем Дж. Синклером (1754—1835), который своими публикациями внес значительный вклад в развитие геронтологии (Freeman, 1979).

Все возрастающий поток биологической информации и многочисленные попытки обобщения биологического знания на рациональной основе в конечном счете привели к тому, что в XIX в. (начиная примерно со второй его четверти) и в начале XX в. были открыты основные специфические биологические законы: клеточное строение организмов, теория эволюции и законы наследственности, что создало предпосылки для окончательного формирования биологии как самостоятельной дисциплины. Применение этих законов привело к огромному прогрессу биологического знания, к существенному приближению к истинному пониманию живой природы. В течение

этого периода окончательно сформировались практически все основные биологические дисциплины, важные для геронтологии: физиология обмена веществ, эндокринология, иммунология, физиология высшей нервной деятельности, эволюционная зоология, генетика (История..., 1972; История биологии..., 1975). Тогда же в геронтологии стали использоваться аналитические модели, такие как уравнение Гомперца-Мейкема (см., например, Гаврилов, Гаврилова, 1991) или аналитическая модель старения Н. А. Белова (Дупленко, 1985). Все это свидетельствует, что относительно используемых моделей данный период можно считать *аналитическим периодом*.

Однако ключом к пониманию феномена жизни и старения являются процессы на молекулярном уровне организации живой материи (История биологии..., 1975, с. 9—10). Поэтому возникновение истинно научной геронтологии не могло произойти ранее формирования молекулярной биологии в 50-х гг. XX в., обозначившей достижение последнего уровня редукции в познании биологических законов, относящихся к геронтологии. Это создало предпосылки для отказа от спекулятивных, умозрительных теорий, в то время все еще игравших значительную роль в геронтологии. Существенное значение имело также произошедшее в это время осознание важности процессов переработки информации для обеспечения функционирования живых систем (это было связано с работами как по молекулярной биологии, так и по нейробиологии) и создание математических основ кибернетики и информатики (теории систем, управления, автоматов и т. п.). Прогресс в молекулярной биологии и информатике обеспечил основные необходимые условия для перехода от качественной, аналитической и экспериментальной геронтологии к количественной, синтетической и вычислительной. Окончательная реализация этой парадигмы приведет к тому, что основной объем знаний будет получаться из вычислительных, а не из натуральных экспериментов (это произойдет, когда будут досконально поняты, вплоть до создания точных кибернетических моделей, все законы функционирования живой материи и будет достигнута необходимая вычислительная мощность компьютеров). Поскольку в этот период в геронтологии начали применяться кибернетические модели (для описания регуляции, регенерации, надежности, эпидемиологических процессов, старения на уровне популяции и т. д. (см., например, Беркинблит, Гаазе-Рапопорт, 1975)) этот период может быть назван *кибернетическим периодом*.

### 1.2.3. Другие варианты периодизации геронтологии

Предложенная выше периодизация в известной мере следует исторической традиции (обобщая ее). Подобное деление на периоды как явно, так и неявно присутствует во многих исторических исследованиях в области геронтологии.

В неявном виде периодизация истории геронтологии присутствует в различных датировках момента возникновения геронтологии. Его относят к

разным историческим периодам: к периоду Античности, к Возрождению, к концу XIX в.—началу XX в., к середине XX в. (Грмек, 1964; Давыдовский, 1966; Комфорт, 1967; Александрава, 1974; Freeman, 1979; Дупленко, 1985). Причем датировки различаются не только у разных авторов, но и в пределах работы одного автора. Примером могут служить следующие цитаты из монографии И. В. Давыдовского (1966, с. 4, 272): «Первые работы по геронтологии находим у Гиппократов», «Первый печатный труд, сделавший науку о старости особым предметом, принадлежит итальянскому анатому ... Zerbi (Gerontocomia, 1489)»; «Только в XIX и особенно к середине XX века проблема старости выросла в науку — геронтологию». Как будет показано ниже, именно в упомянутые выше периоды происходили наиболее существенные изменения в развитии геронтологического знания. Этот факт означает, что противоречивость в датировке начала геронтологии лишь внешняя, а различие во взглядах на самом деле отражает как наличие периодов в истории геронтологии, так и разные точки зрения на значимость отдельных периодов.

В явном виде периодизация развития геронтологического знания (в основном применительно к социальной и психологической геронтологии) была предложена М. Д. Александровой (1974), которая выделила следующие периоды: 1) донаучный, 2) конца XIX—начала XX в., 3) с 30-х гг. и до начала Второй мировой войны, 4) послевоенный период. Однако поскольку геронтология является преимущественно биологической наукой, то подход, предложенный в настоящей работе и основанный на сопоставлении развития биологии и геронтологии, представляется более адекватным. С этой точки зрения геронтология в качественный и количественный периоды (в донаучный у Александровой) существенно различалась как методологически, так и интенсивностью исследований. В то время как развитие геронтологии в аналитический период (во второй и третий периоды у Александровой) происходило скорее постепенно, в 30-е гг. не происходило особенно значимых событий, позволяющих разделить этот период.

### 1.3. ПЕРИОД КАЧЕСТВЕННЫХ МОДЕЛЕЙ

Где призраки, свой человек философ.  
Он покоряет глубиной вопросов,  
Он все громит, но после всех разносов  
Заводит новых предрассудков тьму.

*Иоганн Вольфганг Гете. Фауст*

#### 1.3.1. Продление жизни в древнейших культурах

По всей вероятности, в древнейшие времена желание понять феномен старения было неотделимо от желания замедлить или устранить его. Существование возможности увеличения продолжительности жизни путем борьбы со старением первоначально могло основываться на фактах разной ин-

дивидуальной продолжительности жизни людей и разной средней продолжительности жизни у разных видов животных, длительного существования некоторых видов деревьев и неживых объектов, а также на возможности лечения заболеваний. Как возникновение понимания того, что могут быть найдены способы продлить жизнь, нашедшее свое отражение в мифах, так и начало применения средств, действительно продлявших жизнь (в первобытных обществах и в ранних цивилизациях уже существовало врачевание, что, конечно же, продляло жизнь), теряются во времени. Одним из наиболее древних письменных свидетельств считается фрагмент из эпоса о шумерском царе Гильгамеше (включенный в эпос, вероятно, в первой половине второго тысячелетия до н. э.), в котором рассказывается, что Гильгамеш в поисках бессмертия нашел растение, омолаживающее тело, но не сумел им воспользоваться (Вишев, 1990; Якобсен, 1995). Что касается практических рецептов, то описания старческих изменений и рекомендации по продлению жизни можно найти уже в произведениях древнеегипетских и древнеиндийских авторов (Грмек, 1964; Freeman, 1979). Однако первые целенаправленные, систематические попытки достичь цели продления жизни, к тому же основанные на использовании в какой-то степени адекватных методов, достоверно зарегистрированы в древнем Китае у даосов (Gruman, 1966).

### 1.3.2. Даосизм

Даосизм представляет собой религиозно-философскую систему, одна из главных целей которой — продление жизни ее адептов (Gruman, 1966; Стулова, 1984). Это учение начало формироваться в IV—III вв. до н. э. в Китае на основе синтеза наблюдений над природными явлениями и их разнообразных интерпретаций, существовавших в традиционной китайской культуре того периода. Согласно даосизму, видимый мир есть проявление единой сущности (или силы) — *дао* (наиболее близкий аналог в западной философии — пантеизм, т. е. отождествление Бога и природы). Такое видение мира подразумевало единство всего сущего, отсутствие четкого разделения на дух и материю, на Бога и человека. Следствием этого было понимание, что человек может посредством собственных усилий трансформироваться в совершенное, богоподобное, бессмертное существо и что для осуществления такой трансформации необходимы комплексные меры, в том числе включающие и материальные воздействия на тело человека.

Основными из этих мер были следующие: этические — спокойная, размеренная жизнь (для экономии жизненной энергии); религиозные — в основном медитация (для оказания влияния на дао); дыхательная техника — задержка дыхания и т. д. (поскольку считалось, что через дыхание осуществляется связь между человеком и божеством, то контроль процесса дыхания означал контроль над духом); диета — ее основу составляли малокалорийные продукты растительного происхождения (поскольку считалось, что такая пища содержит больше воздуха); специальные гимнастические

упражнения — гимнастика даосов у нас известна под названием *кунг фу* (имела вспомогательное значение для достижения совершенства в дыхательной и сексуальной технике); сексуальная техника — у нас известна как *дао любви* (применялась для увеличения своей жизненной силы за счет получения ее от партнера, из чего следовало, что партнеров должно быть много и они не должны быть даосами). Эти вышеперечисленные методы, называвшиеся *внутренней трансформацией*, дополнялись *внешней трансформацией*, включавшей в себя применение специальных веществ, продляющих жизнь, а также поиск *эликсира* — субстанции, способной превращать одни вещества и существа в другие, например ртуть в золото (что рассматривалось как «лечение» металлов), смертного человека в бессмертного.

Основные положения даосизма основаны на понимании единства природы, что следовало из наблюдений. Другим источником была возможность химических превращений веществ, открытая в результате практической деятельности. Возникновение акцента на возможности достижения бессмертия частично может быть объяснено необходимостью привлечения новых adeptов в условиях конкуренции с другими религиозными течениями (Васильев, 1970; Торчинов, 1998). Помимо вышеперечисленных влияний некоторыми исследователями (Васильев, 1970) допускается возможность заимствования некоторых положений даосизма из индийских религиозных систем, на которые в свою очередь могла повлиять древнеегипетская религия.

Можно допустить, что применение методов даосизма действительно может способствовать увеличению продолжительности жизни, например, современные исследования (см. главу 14) показывают, что низкокалорийная диета может способствовать существенному продлению жизни. Однако нет достоверных данных о влиянии диеты и других мер даосов на их продолжительность жизни (Gruman, 1966). Поэтому нельзя утверждать, что следование канонам даосизма может существенно продлить жизнь.

### 1.3.3. Герокомия

Старости надо сопротивляться... Как борются с болезнью, так надо бороться и со старостью: следить за своим здоровьем, есть и пить столько, сколько нужно для восстановления сил, а не для их угнетения.

*Марк Туллий Цицерон (106—43 гг. до н. э.). О старости*

Примерно в то же время, что и даосизм в Китае, в Древней Греции зародилась *герокомия* (или *герокомика*) — направление, связанное с возможностью достижения здоровой старости с помощью умеренности во всем (Грмек, 1964). Как правило, в рамках этого подхода подразумевается, что смерть неизбежна (так называемая апология смерти) и продлить жизнь дальше некоего предела нельзя — можно только помочь каждому прожить его естественную продолжительность жизни без тяжелых болезней.



В отличие от даосизма, который возник в относительно монокультурной среде, постепенно формируясь на основе первобытной мифологии, где вера в сверхъестественное, включая представления о загробной и вечной жизни, была основой мировоззрения, греческая философия и медицина возникли под влиянием очень многих, сильно различающихся друг от друга философских и религиозных концепций (т. е. целостность первобытного мифологически-религиозного мировоззрения древних греков была разрушена), что не могло не вызывать недоверия к умозрительным теориям, и разнообразие, эклектичность и противоречивость древнегреческой философии служит тому подтверждением. Примером такой противоречивости может служить и отношение древних греков к проблеме продления жизни. С одной стороны, мировоззрение древних греков было преимущественно фаталистическим — в мире все предопределено и человек не может влиять на природные процессы, не может изменить свою изначально смертную природу. Это отражено как в их мифах, где даже боги были не властны над судьбой (см., например, Кун, 1975), так и во многих философских системах, описывающих мир как полностью детерминированную сущность (Целлер, 1996). С другой стороны, есть отдельные свидетельства, что мысль о существовании средств, дающих бессмертие, была не чужда древним грекам. Например, в некоторых мифах таким средством считался огонь, который делал человеческое тело бессмертным, выжигая его смертные части (Аполлодор, 1972, с. 8, 131). Возможно, на возникновение таких представлений повлияли идеи зороастрийцев, в религии которых доминировал культ огня и бессмертия (Бойс, 1994).

Вероятно, противоречивость мировоззренческих позиций была одной из причин того, что отношение древних греков к действительности в значительной степени базировалось не на умозрительных концепциях, а на анализе практического опыта и наблюдений (Gruman, 1966), которые свидетельствовали, что смерть неизбежна. Вместе с тем практический опыт лечения болезней и примеры долгожителей показывали, что достижение здоровой старости является осуществимой задачей. Следствием практической основы герокомии было не только то, что ее рекомендации были весьма полезны, но также и то, что некоторые теоретические построения античных ученых, объясняющие старение (конечно, в современной интерпретации), были недалеко от истины. К примеру, начиная с Гераклита (конец 6—начало 5 в. до н. э.) и Парменида (ок. 540—ок. 470 гг. до н. э.), старение обычно объяснялось как потеря внутреннего тепла и влаги (Грмек, 1964). Тепло тогда было синонимом энергии, а согласно современным теориям в основе старения действительно может лежать ухудшение способности клетки к выработке энергии вследствие накопления молекулярных повреждений (Sohal, Weindruch, 1996).

В античный период герокомия не была системой взглядов и не представляла выделенного направления. Наблюдения над процессом старения, описания возрастных заболеваний и советы по продлению жизни были разбросаны по многочисленным трактатам античных авторов: Гиппократы,

Аристотеля, Цельса, Галена, Орибазия, Асклепиада и других (Грмек, 1964). Для сохранения тепла и влаги рекомендовалась диета, умеренные физические упражнения, массаж, водные процедуры. Важное место в герокомии отводилось и заботе о пожилых людях (т. е. герогиgiene). Большинство из этих методов безусловно полезны для достижения здоровой старости. Другое дело, что они в принципе не могут радикально продлить жизнь.

Традиции герокомии получили значительное развитие в византийской и арабской медицине, откуда они были заимствованы врачами средневековой Европы. Однако методы, предлагавшиеся средневековыми сторонниками герокомии, практически совпадали с рекомендациями античных авторов (Грмек, 1964).

#### 1.3.4. Алхимия

Довольно! Пора мне забыть этот вздор,  
Пора мне вернуться к рассудку!

*Георх Гейне*

В отличие от сторонников герокомии алхимики предполагали, что победа над смертью возможна (Gruman, 1966). Они считали смертность следствием несовершенства человеческой природы и, следовательно, ликвидация этого несовершенства могла бы привести к достижению практического бессмертия. Устранить несовершенство предполагалось путем некоей трансформации человека в бессмертное существо. Под этим либо понималась гармонизация соотношения составляющих его элементов, либо поиск и «выращивание» (путем химических превращений) некоей бессмертной составляющей человека. В любом случае средством для этого должна была служить особая субстанция — эликсир, или философский камень, или пятый элемент (считалось, что тело человека и других земных существ состоит из четырех типов элементов, а пятый элемент является божественным). Поиск этой субстанции и являлся основной целью алхимиков.

Считается, что алхимия начала формироваться в Египте в эллинистический период, когда химические знания египтян были переосмыслены в рамках философских (как протонаучных, так и религиозно-мистических) представлений древних греков (Gruman, 1966; Рабинович, 1979; Франц, 1997, с. 85; Торчинов, 1998, с. 121). Безусловно на этот процесс повлияли и религиозно-мистические концепции других соседних народов (в основном, евреев и персов) (Холл, 1997). Начальный этап развития алхимии был отражен в трактатах таких авторов, как Зосима (IV в.), Синезий (V в.), Олимпиодор (VI в.), Стефан Александрийский (VI в.) (Рабинович, 1979). В раннем Средневековье арабскими учеными было продолжено развитие алхимических представлений эллинистических авторов, а также, вероятно, и китайских (Gruman, 1966). Арабо-эллинистический генезис отражен и в самом названии «алхимия»: «ал» — арабский определенный артикль, «Кем» — древнее

название Египта, обозначающее также черную плодородную землю долины Нила (возможно, что от этого и произошло название страны) и черное вещество, появление которого на первой стадии алхимических превращений описано во многих трактатах (Холл, 1997). Хотя существуют и другие версии происхождения этого термина: от имени библейского Хама, от греческих слов «хюмос» — сок или «химевсис» — смешивание, от китайского названия золота — «ким», от латинского «хумус» — земля (Рабинович, 1979, с. 13). В этот ряд, вероятно, можно поставить и персидское слово «хаома» — название растения (или сока, напитка), дающего бессмертие (Бойс, 1994).

Экспериментальный аспект продления жизни в эллинистической и арабской алхимии имел периферический характер (Gruman, 1966). Вероятно, это было связано с тем, что в первой из них господствовали мистические представления, а во второй — продление жизни могло истолковываться как противоречие воле Аллаха, который создал людей смертными. Способствовало же развитию арабской алхимии то, что тогда она была тесно связана с медициной (т. е. с практическими потребностями людей). Другим важным стимулом для ее развития была идея о том, что человек может приобрести власть над природой средствами науки в тогдашнем ее понимании (последнее получило свое дальнейшее развитие в западноевропейской алхимии). Наиболее известными алхимиками исламского мира, касавшимися проблемы продления жизни, были араб Гебер (VIII—IX вв.), персы Аль-Риз (Ар-Рази) (850—923 гг.) и Авиценна (Ибн-Сина) (980—1037 гг.).

Через арабов алхимия была заимствована учеными средневековой Европы, где она получила свое дальнейшее развитие — фактически алхимия являлась наукой того времени (Рабинович, 1979), и эксперименты по поиску эликсира жизни были поставлены на широкую основу (Gruman, 1966). Этим европейская алхимия больше напоминала китайскую, чем арабскую или эллинистическую. Во многом это произошло благодаря трудам английского философа и естествоиспытателя Р. Бэкона (1214—1294). Он считал, что короткая жизнь — не норма, а отклонение от нее. Основной причиной укорачивания жизни, по его мнению, был несправедный и неправильный образ жизни людей, причем эта несправедность наследуется и накапливается и, следовательно, каждое поколение живет все меньше. Особенно по сравнению с эталоном праведности — ветхозаветными патриархами, жившими, согласно Библии, около тысячи лет. Главным путем для увеличения продолжительности жизни он полагал поиск веществ, ее продляющих, при помощи алхимических методов. В частности, он рекомендовал золото, ладан, жемчуг, змеиное мясо, дыхание девушек.

Одним из последних знаменитых алхимиков, большое внимание уделявших аспектам омоложения и продления жизни, был швейцарский врач и естествоиспытатель Парацельс (1493—1541). По мнению М. Грмека (1964, с. 55) и более раннему указанию французского физиолога А. Дафра (1914, с. 122), его относительно недолгая жизнь доказала бесполезность его снадобий. Однако такое суждение может оказаться поверхностным, поскольку

существуют версии о насильственной смерти Парацельса. По одной из них его устранили конкуренты, так как его методы лечения были очень популярны (Гартман, 1997; Холл, 1997).

Стоит заметить, что если рассматривать общую постановку проблемы, то исходные посылки алхимиков были в сущности правильными. Однако вследствие зачаточного уровня развития науки в то время предлагаемые ими методы вряд ли могли привести их к успеху. Хотя, в принципе, методом проб и ошибок, они могли бы найти вещество или снадобье, применение которого продлевало бы жизнь. Так, добавление в пищу селена может продлить жизнь в районах, где его содержание в природных источниках недостаточно (Гаврилов, Гаврилова, 1991). Тем не менее эксперименты алхимиков оказали влияние не только на развитие методов продления жизни, но и на формирование экспериментальной биологии и химии (История..., 1972, с. 42; Рабинович, 1979), поскольку «подлинное эмоциональное желание найти бессмертную сущность человека всегда стимулировало стремление постигнуть тайну материи» (Франц, 1997, с. 98).

#### 1.4. ПЕРИОД КОЛИЧЕСТВЕННЫХ МОДЕЛЕЙ

По черточкам морщин в стекле правдивом  
Мы все ведем своим утратам счет.  
А в шорохе часов неторопливом  
Украдкой время к вечности течет.

*Вильям Шекспир. 77-й сонет*

##### 1.4.1. Идея прогресса и формирование научной методологии в геронтологии

В XV—XVI вв. в Европе началась эпоха технико-экономического прогресса, который сопровождался бурным развитием физики, химии, математики, формированием рационального научного мировоззрения и революционными преобразованиями в области общественных отношений. Происходил и рост биологического знания, в том числе таких разделов, как анатомия и физиология, играющих важное значение для понимания феномена старения.

Эти процессы явились причиной того, что в области знания о старении происходил отказ от упрощенных представлений прошлого и формировалось понимание того, что для познания феномена старения и решения проблемы продления жизни еще мало научных данных, но в конечном счете прогресс естественных наук приведет к познанию и замедлению процесса старения, к значительному увеличению продолжительности жизни. Можно сказать, что тогда создавался методологический базис или философия геронтологии, совершался переход от полуфантастических, религиозно-мистических представлений к реалистическим, происходило накопление на-

блюдений и экспериментальных фактов, значительно увеличился объем количественных данных, для их обработки стали применяться статистические методы. И хотя в целом уровень развития науки и техники того времени не позволял осуществить реализацию новых, научно обоснованных методов продления жизни (в ходу были лишь рекомендации герокомии прошлых эпох), однако их разработка в последующие исторические периоды во многом была подготовлена именно философскими и методологическими работами ученых того времени.

О возможности увеличения продолжительности жизни (до возраста ветхозаветных патриархов и более) в результате прогресса науки упоминали в своих работах французский философ и ученый Р. Декарт (1596—1650) и американский ученый и политик Б. Франклин (1706—1790) (Gruman, 1966). Более подробно этот вопрос рассмотрел английский философ (родоначальник английского материализма и современной экспериментальной науки) Ф. Бэкон (1561—1626), которого известный современный английский геронтолог А. Комфорт назвал «первым последовательным английским геронтологом» (Комфорт, 1967, с. 14). Бэкон критиковал методы прошлого как неполные и ошибочные и в своей утопии «Новая Атлантида» наряду с другими проектами преобразования общества и науки описал методологию поиска путей продления жизни с помощью научных экспериментов (Бэкон, 1962).

Далее, в конце XVIII в., английский философ (один из первых теоретиков анархизма) и писатель У. Годвин (1756—1836) и французский философ, ученый и политик Ж. Кондорсе (1743—1794) связали возможность продления жизни с социальным прогрессом (Gruman, 1966). Годвин в своих работах указал на то, что желание продлить жизнь есть часть естественного стремления человека к совершенству. Такое улучшение человека, согласно Годвину, является необходимым условием для улучшения общества — это основополагающая идея анархизма о том, что безгосударственное общество может быть построено только на основе нравственности (см., например, Кропоткин, 1991). Поэтому Годвин подчеркивал важность самоконтроля психических процессов для увеличения продолжительности жизни, называя это психосоматической медициной и умственной гигиеной. Кондорсе, как и Годвин, был теоретиком социальных преобразований, но во главу угла он ставил не личность, а общество, что отразилось и на его воззрениях на проблему продления жизни. Он связывал возможность продления жизни с общественным прогрессом. В совершенном обществе наука познает законы материи, следствием которых является старение, сможет управлять ими, тем самым поддерживая человека в состоянии вечной молодости.

#### 1.4.2. Начало научного исследования старения

В этот период начали выходить трактаты врачей и философов (Г. Церби, Д. Кардано, Ф. Бэкона, А. Галлера, Б. Раша и др.), в которых подробно описывались физиологические и психологические симптомы старости и

возрастные заболевания (для обозначения науки о старении и практики prolongation жизни использовались такие термины, как *герокомика*, *геронтокомика*, *герология*, *макробиотика*). С. Санторио проводил эксперименты по выявлению физиологических различий молодых и стариков. В. Гарвеем, Ж. Б. Морганьи, И. Б. Фишером, Б. В. Зейлером и другими учеными изучалась морфология старческих изменений на основе вскрытия трупов, были выявлены такие изменения, как расширение сердца и аорты, обызвествление артерий, хрупкость костей и т. п. (Грмек, 1964). Учитывая вклад в геронтологические исследования И. Б. Фишера (1865—1772), возглавлявшего в середине XVIII в. российское здравоохранение (Томилин, 1951), его можно назвать «первым последовательным российским геронтологом». Дж. Граунтом, Э. Галлеем, Л. Эйлером, Ж. Бюффоном составлялись демографические таблицы продолжительности жизни, сравнивалась продолжительность жизни разных видов, делались попытки установить связь между такими параметрами, как продолжительность жизни и длительность периода роста. Во всех этих операциях широко применялись статистические методы (Гаврилов, Гаврилова, 1991).

#### 1.4.3. Продолжение традиции герокомии

Наиболее известным европейским продолжателем традиции герокомии эпохи Возрождения считается венецианский дворянин Л. Корнаро (1467—1565) (Грмек, 1964; Gruman, 1966). Корнаро интересен своей попыткой адаптировать герокомию к христианской церкви. Так, аргументом для сохранения здоровья как можно дольше было то, что это будет способствовать более долгому служению Богу, к тому же в старости человек свободен от страстей и его служение Богу может быть более эффективно. Метод же, предлагаемый Корнаро, был традиционным — умеренность и прежде всего в еде.

Далее на протяжении этого периода разнообразные рекомендации герокомического характера содержались в трудах многих исследователей феномена старения, упомянутых в предыдущем разделе. В наиболее полном виде они были отражены в работах немецкого врача К. Гуфеланда (1762—1836) (Грмек, 1964). Гуфеланд, подобно Корнаро, пытался адаптировать герокомию к популярным философским теориям, тогда такой теорией был витализм. Согласно Гуфеланду, долголетие человека в значительной степени определяется состоянием его духа. Поэтому, проповедуя умеренность для достижения долголетия, он делал акцент на психическую умеренность (контроль эмоций, умение расслабляться и т. д.). Он различал сохранение здоровья и достижение долголетия: первым занимается гигиена, а вторым — макробиотика, специальная ветвь медицины, родственная гигиене. «Макробиотика» называлась и наиболее известная его книга (написанная в 1796 г.), оказавшая сильное влияние на профилактику старческих болезней XIX в. (а некоторые геронтологи воспроизводили его рекомендации

вплоть до середины XX в.), переведенная на многие языки и многократно переиздававшаяся (в нашей стране последнее издание вышло совсем недавно (Гуфеланд, 1996)).

## 1.5. ПЕРИОД АНАЛИТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ

Все опыт, опыт! Опыт — это вздор.  
Значенья духа опыт не покроет,  
Все, что узнать успели до сих пор,  
Искать не стоило и знать не стоит.

*Иоганн Вольфганг Гете. Фауст*

### 1.5.1. Начало формирования геронтологии как самостоятельной научной дисциплины

Революционные преобразования, происходившие в биологии в XIX в. и начале XX в. и в основном заключающиеся в открытии специфически биологических законов, не могли не повлиять и на развитие биологии старения. Накопление данных о старении живых организмов и их обобщение на основе открытых биологических законов позволили сформулировать научно проверяемые теории старения, ставшие основой для экспериментальных исследований, разработки и практического применения методов продления жизни. Однако ключом к пониманию первичных причин старения являются процессы на молекулярном уровне организации живой материи. Отсутствие соответствующего знания препятствовало появлению как достоверных теорий старения, так и эффективной терапии болезней старения.

На основе эволюционных представлений возникло несколько теорий старения (Дупленко, 1985). Широкую известность получила теория А. Вейсмана о бессмертии простейших и половых клеток многоклеточных и о приспособительном характере старения и смерти — старые индивидуумы конкурируют с молодыми, что приводит к уменьшению репродуктивного потенциала популяции. Не менее значимыми были и представления И. И. Мечникова о том, что в процессе эволюции признак, сначала имевший адаптивное значение, впоследствии может стать источником вредных воздействий на организм, что ведет к болезням и старению (подробнее его взгляды рассмотрены ниже). Исследования по биохимии и биофизике привели к возникновению представления, что старение является результатом расходования какого-то жизненного фермента (О. Бючли), утрате определенных химических веществ (Дж. Лёб), дегидратации тканевых коллоидов (М. Рубнер, В. Ружичка), накопления вредных продуктов обмена (А. Каррель), изнашивания организма (Р. Гертвиг). Эмбриологи считали, что старение обусловлено замедлением роста и ослаблением способности к обновлению клеток из-за их дифференциации (Ч. Минот, Р. Рёссле, Е.А. Шульц). Нейрофизиологи рассматривали старость как результат функциональных

нарушений высшей нервной деятельности (И. П. Павлов и его школа) (Грмек, 1964). Применение ранних вариантов теории систем для исследования проблемы старения привело к выводу о неизбежности возникновения старения вследствие крайне высокой вероятности появления сбоя в процессе функционирования сложной системы (А. А. Богданов, Н. А. Белов) (Дупленко, 1985). Обобщение демографических данных дало начало широкому применению математических методов для описания процесса старения, к созданию научного базиса для исследований по биологии продолжительности жизни (Б. Гомперц, У. Мейкем, К. Пирсон, Р. Пирл) (Гаврилов, Гаврилова, 1991). На основе теоретических представлений о механизмах старения стали предприниматься попытки разработки и применения методов для увеличения продолжительности жизни (см. ниже), эффективность которых, однако, является достаточно сомнительной (Грмек, 1964). Началось организационное оформление геронтологии — возникли геронтологические и гериатрические научные школы и общества, стали проводиться специализированные конференции, выходить периодические издания, всецело посвященные проблеме старения и продления жизни (Грмек, 1964; Давыдовский, 1966; Freeman, 1979). Появились современные термины как для науки и знания о старении и продлении жизни — *геронтология*, так и для применения этого знания в медицинской практике — *гериатрия*. Первый из них был введен И. И. Мечниковым (Gruman, 1966) в книге «Этюды о природе человека», впервые опубликованной на французском языке в 1903 г. (Metchnikoff, 1903, с. 386), а второй — И. Насчером (Грмек, 1964) в одноименной статье, опубликованной в *New York Medical Journal* в 1909 г. (Nascher, 1909).

Тогда же в геронтологии стали использоваться аналитические модели. В 1825 г. Б. Гомперцем была предложена функциональная зависимость для описания вымирания популяции, которая в 1860 г. была модифицирована У. Мейкемом. С тех пор эта зависимость (уравнение Гомперца—Мейкема) является краеугольным камнем биологии продолжительности жизни (Гаврилов, Гаврилова, 1991). Позднее (в 10—20 гг. XX в.) Н. А. Беловым была предложена аналитическая модель для описания старения в сложной системе (Дупленко, 1985). Аналитическое описание популяций, сделанное в 20-х гг. XX в. В. Вольтеррой и А. Лоткой (Беркинблит, Гаазе-Рапопорт, 1975), заложило основы для современных аналитических исследований эволюционного аспекта феномена старения на популяционном уровне (Partridge, Barton, 1993).



### 1.5.2. Первые попытки продлить жизнь, основанные на биологических исследованиях

Желанный друг неведомых столетий!  
Ты весь дрожишь, ты потрясен былым!  
Внемли же мне, о, слушай строки эти:  
Я был, я мыслил, я прошел как дым...

*Валерий Брюсов*

Одним из пионеров поиска методов продления жизни на основе эволюционных представлений о природе старения был великий русский биолог, И. И. Мечников (1845—1916). Согласно его представлениям (Мечников, 1988), в процессе эволюции признак, сначала имевший адаптивное значение, впоследствии в результате возникающих в процессе его функционирования побочных эффектов или из-за изменений условий существования может стать источником вредных воздействий на организм. Это в конечном счете приводит к дисгармонии в функционировании организма, к болезням и старению (он различал преждевременное и нормальное старение). Для целей настоящей работы важно отметить, что Мечников понимал связь между наличием сознания и желанием жить как можно дольше. В частности он писал: «Из всех дисгармоний человеческой природы самая главная есть несоответствие краткости жизни с потребностью жить гораздо дольше» (Мечников, 1954, с. 20). Возникает же эта дисгармония как результат того, что у человека «высокое умственное развитие обусловило сознание неизбежности смерти, а животная природа сократила жизнь вследствие хронического отравлениями ядами» (Там же, с. 39). Яды здесь следует понимать в широком смысле, так как он считал, что «весьма вероятно, что естественная смерть также сводится к отравлению — только не чуждыми организму бактериями, а самими элементами нашего тела» (Там же, с. 235). Аналогом такого самоотравления может служить повреждение клетки свободными радикалами, считающимися сейчас одной из главных причин старения, т. е. тут Мечников был недалеко от истины (Кольтовер, 1998). Самоотравление же происходит, по его словам, из-за того, что «человек, явившейся в результате длинного цикла развития, носит в себе явные следы животного происхождения. Приобретая неведомую в животном мире степень умственного развития, он сохранил многие признаки, оказавшиеся ему не только ненужными, но прямо вредными» (Мечников, 1954, с. 39).

Метод же, предложенный Мечниковым для продления жизни, был связан с его работами в области микробиологии. По его мнению, главной дисгармонией, ведущей к преждевременному старению, является толстый кишечник, первоначально служивший для переваривания грубой растительной пищи, а при изменении характера питания ставший своего рода инкубатором для гнилостных микроорганизмов, продукты обмена которых отравляют организм, тем самым сокращая продолжительность жизни. В связи с этим для увеличения продолжительности жизни он предлагал употреблять кисломолочные продукты (йогурт и т. д.), угнетающие деятельность гнило-

стных бактерий. Как перспективный метод он даже предлагал производить хирургическое удаление толстой кишки. Тем не менее Мечников не абсолютизировал роль кисломолочных продуктов в предотвращении преждевременного старения (тем более нормального старения) — это была часть в его интегральном подходе к увеличению продолжительности жизни, который он называл *ортобиозом* — правильным образом жизни (Пионтковский, 1956). Этот подход должен включать в себя гигиенические меры, а также, в перспективе, изменение природы человека и общественного устройства. Это его предвидение, как и его гипотеза о самоотравлении, тоже может оказаться верным: одним из наиболее вероятных способов увеличения продолжительности жизни считается использование методов генной инженерии, что и есть «изменение природы человека».

Без всякого сомнения, как практические, так и теоретические работы Мечникова заложили основы современной геронтологии (Фролов, 1989), вывели проблему изучения старения из традиционной медицинско-гигиенической плоскости на широкий путь эволюционно биологических исследований (Тишков, 1987).

Одним из продолжателей взглядов И. И. Мечникова был выдающийся русский ученый В. Г. Коренчевский. Окончив в 1903 г. Военно-медицинскую академию в Санкт-Петербурге, В. Г. Коренчевский работал на медицинском факультете Московского университета, где в 1909 г. защитил диссертацию на степень доктора медицины на тему: «К учению о желудочно-кишечном отравлении». В 1910 г. он был приглашен И. П. Павловым в Петербург для работы в Физиологическом отделе Института экспериментальной медицины и на кафедре физиологии Военно-медицинской академии.

В 1919 г. В. Г. Коренчевский покинул Россию и долгие годы провел в Великобритании. В 1945 г. он основал в Оксфорде Геронтологическую лабораторию, организовал в Великобритании «Клуб старения», который был переименован в «Британское общество по изучению старения», а в 1950 г. в г. Льеже, Бельгия, открывал первый Международный геронтологический конгресс, став основателем Международной ассоциации геронтологии (Хавинсон и др., 2002). В 1956 г. Коренчевский сообщил, что его теория старения — это соотношение клеточного метаболизма и активности желудочно-кишечной микрофлоры. В своей фундаментальной монографии «Физиология и патология старения», опубликованной в 1961 г. в США, он писал: «Цель не только продлить жизнь, но и укрепить ее — **добавить жизнь к годам, а не годы к жизни**, также предотвратить проявление ухудшений, облегчить патологические симптомы, которые не обязательно ассоциируются с нормальным старением, так как они не выявляются в большинстве редких случаев менее выраженного патологического старения. Так как старение начинается очень рано, реально проследить, что физиологически нормальные процессы изменяются и, следовательно, меняется жизнь человека и поэтому, вероятно, в будущем человек будет представлен, как другое, более совершенное существо».

Другим направлением продления жизни в конце XIX в. и в начале XX в. было использование экстрактов половых желез (Грмек, 1964; Курцмен, Гордон, 1982). Оно основывалось на очевидной связи между здоровьем и половой активностью, т. е. считалось, что стимуляция половой функции может привести к удлинению жизни (стоит заметить, что еще даосы использовали вытяжки из семенников в пищу). Возникновение интереса к этому методу связано с именем французского физиолога Ш. Броун-Секара (1818—1894), вводившего себе (правда, после опытов на животных) инъекции вытяжки из семенников собак и кроликов и утверждавшего, что он помолодел на 30 лет. Метод стал ограниченно применяться. В дальнейшем австрийский хирург О. Штейнах (1861—1944) пытался стимулировать функции семенников хирургическим путем, включая пересадку семенников животных. В широкую практику пересадку семенников человекообразных обезьян ввел русский хирург (работал в основном во Франции) С. Воронов (1866—1951). Еще более известен метод «клеточной терапии» швейцарского врача П. Ниханса (1882—1971), использовавшего тканевые экстракты (в том числе эмбриональные) для омоложения десятков тысяч людей, включая достаточно известных (папа Пий 12, У. Черчилль, Ш. де Голль, К. Аденауэр, С. Моэм, Т. Манн).

Эффективность подобных методов в основном кратковременная, нет достаточных данных об увеличении продолжительности жизни в результате их применения, хотя они содержали рациональное зерно и эксперименты по использованию тканевой (основанной на феномене активации клеток продуктами распада клеток того же типа, что вполне объяснимо, так как смерть клетки должна компенсироваться увеличением активности и/или размножением других клеток) и гормональной терапии продолжаются (Никитин, 1982).

Нужно отметить, что в нашей стране интерес к применению экстрактов половых желез вылился в серьезные исследования, связанные с возможностью регуляции процессов старения, продолжение которых в наше время привело к разработке достаточно эффективных методов продления жизни (см. ниже).

Начало этих исследований можно отнести к работам профессора А. Пеля. В созданном им в Санкт-Петербурге Институте опотерапии (термин, применявшийся для обозначения использования препаратов (вытяжек или экстрактов) или употребления в пищу тех органов, на которые хотели оказать лечебное воздействие) больным для восстановления сил и продления их жизни вводился препарат *спермин*, выделяемый из семенной жидкости животных (Шмидт, 1924). Позднее, в начале XX в., под руководством и при участии С. И. Метальникова (1917) исследовались процессы старения в культурах клеток простейших, а также обсуждались возможности регуляции старения на клеточном уровне. А. В. Догель (1922) по результатам своих исследований симпатической нервной системы сделал вывод, что ее перерождение в старости ведет к ослаблению трофических влияний нервной системы на ткани и в них наступает расстройство обмена веществ. Н. А. Бе-

лов (1924) разработал системный подход к организму, где важная роль принадлежит регуляторным взаимодействиям между его частями. Э. Бауэр (1935) считал, что старение является следствием ограничения роста, что в свою очередь следует из свойств молекул белка. Следствием же его представлений об организме как неравновесной системе являлась важность процессов регуляции для поддержания его устойчивости. И. И. Шмальгаузен в своих ранних работах также обосновывал старение процессами, регулирующими рост (Шмальгаузен, 1926). Он считал, что жизнь можно продлить гормональными воздействиями.

В это же время начало складываться представление о важной роли центральной нервной системы в развитии практически всех патологий (возникшее во многом как ответ на теорию клеточной патологии Р. Вирхова). Его зарождение связано с работами И. М. Сеченова, повлиявшими на С. П. Боткина, который в свою очередь привлек для изучения этой проблемы И. П. Павлова (Ильинский, 1985). Его собственные исследования, а также работы его учеников (А. В. Тонких, Л. А. Андреева, Д. И. Соловейчика, А. Д. Сперанского, М. К. Петровой и др.) заложили основы представления об организме как о саморегулирующейся системе, о неравномерности изменения нервной регуляции с возрастом (Дупленко, 1985). М. К. Петрова (1946), обобщая результаты многолетних экспериментов школы Павлова по изучению возрастной физиологии, сделала вывод о ведущей роли нервной системы в генезе старения.

В тесной связи (благодаря методологическим установкам С. П. Боткина) с экспериментально-физиологическим направлением исследований связи нервной деятельности и патологических процессов (в том числе связанных со старением) развивались клинические исследования. Основным сторонником этого направления был выдающийся отечественный клиницист Г. Ф. Ланг. Хотя основной темой его исследований была гипертония (он является автором нейрогенной теории гипертонической болезни), но также он уделял внимание и механизмам возникновения атеросклероза, сахарного диабета и других болезней (Ланг, 1975). Его учеником В. Г. Барановым была создана ленинградская школа эндокринологов (Ильинский, 1985). Учеником Г. Ф. Ланга считал себя В. М. Дильман.

Еще одним вариантом активации функций организма и соответственно продления жизни еще со времен Средневековья считалось употребление человеческой крови (она считалась переносчиком жизненного тепла). Делались тогда и попытки переливания крови, но безуспешные (Грмек, 1964). С другой стороны, в начале XX в. была популярна теория о том, что бесмертие одноклеточных организмов может быть объяснено их возможностью конъюгировать друг с другом (в современном понимании — осуществлять обмен генов). Также считалось, что могут конъюгировать между собой и подвижные элементы крови (Метальников, 1917). Отсюда следовал логический вывод, что конъюгация клеток крови разных людей может привести к продлению их жизни. Исследование этой возможности связано с работами российского врача, философа (основателя теории систем) и револю-

ционера А. А. Богданова (1873—1928) (Нагорный, 1940; Карсаевская, Шаталов, 1978). Богданов считал, что старение вызывается случайными нарушениями деятельности отдельных органов, которые ослабляют отдельные звенья (части системы) организма. Причем самым критичным к таким нарушениям является самое слабое звено. Следовательно, воздействуя на него, можно эффективно замедлить процесс старения. Самым слабым звеном он считал подсистему, связывающую другие системы организма, — кровеносную систему. В качестве воздействия на нее он выбрал обмен кровью между двумя людьми с целью осуществления конъюгации элементов крови. Для реализации своей концепции Богданов, будучи одним из видных революционеров и располагавший достаточными возможностями, основал Институт переливания крови в 1926 г. Но, вскоре он погиб, проводя эксперимент на себе.

Его ученик, известнейший советский геронтолог, академик А. А. Богомолец (1881—1946), восприняв его основные идеи, несколько модифицировал их (Богомолец, 1940; Дупленко, 1985; Фролькис, Мурадян, 1988). По его мнению, ведущая роль в старении принадлежит не только крови, а вообще всей соединительной ткани организма. Также он модифицировал и метод борьбы со старением. Им стала активация функций соединительной ткани путем ввода антител к этой ткани. При этом распад части клеток в результате иммунного ответа ведет к активации других клеток этой ткани. По сути этот механизм подобен клеточной терапии (Спасокукоцкий, Барченко, 1982), и подобно последней эффективность метода Богомольца для продления жизни совершенно не очевидна. В последующее время этот метод был замещен гормональной терапией и иммуностимуляцией (Никитин, 1982).

## 1.6. ПЕРИОД КИБЕРНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ

Блажен, кто вырваться на свет  
Надеется из лжи окружной.  
В том, что известно, пользы нет,  
Одно неведомое нужно.

*Иоганн Вольфганг Гете. Фауст*

### 1.6.1. Формирование современной геронтологии

Формирование современной научной геронтологии, включающей в себя исследование процессов старения и поиск методов продления жизни на основе экспериментальных фактов и всесторонне обоснованных научных теорий, произошло в 50-е гг. XX в. (Комфорт, 1967). Это стало результатом создания современной биологии, что в свою очередь стало следствием возникновения молекулярной биологии — открытия ДНК, механизма биосинтеза белков и т. д. Необходимо отметить, что эти открытия произошли во многом благодаря развитию экспериментальной техники, играющей веду-

щую роль и в геронтологических исследованиях. Открытие молекулярных законов жизни и обобщение множества экспериментальных данных привели к тому, что постепенно разнообразные теоретические представления о механизмах старения стали «фокусироваться» вокруг теорий, согласно которым старение является следствием процессов, происходящих на молекулярных уровнях организации живой материи. В частности, свидетельством тому являются последние конгрессы Международной ассоциации биомедицинской геронтологии, где большинство докладов было посвящено свободнорадикальной теории старения. При этом характерно, что наиболее развитые современные теории старения, признавая ведущую роль молекулярных процессов, в то же время большое внимание уделяют его системным и эволюционным аспектам, а также использованию аналитических и кибернетических моделей (см., например, Гаврилов, Гаврилова, 1991; Анисимов, Соловьев, 1999; Анисимов, 2003; Weinert, Timiras, 2003; Геронтология in silico., 2007).

На протяжении всего данного периода постепенное развитие знания о механизмах старения на основе обобщения (включая широкое использование математических методов) все возрастающего объема экспериментальных данных и результатов клинического применения методов продления жизни (см. ниже) неуклонно приближало ученых к разгадке феномена старения и разработке эффективной терапии старения. Однако очень большая сложность биологических систем, многообразие взаимосвязанных факторов, влияющих на старение, препятствовало и все еще препятствует быстрому прогрессу в этом направлении, совершению качественного скачка в разрешении проблемы старения. Тем не менее рост геронтологического знания привел к тому, что в этот период геронтология оформилась как вполне самостоятельная наука со своей проблематикой и институционализированным научным сообществом со специализированными исследовательскими центрами, периодическими изданиями, научными конференциями и т. д. Другим важным результатом стал тот факт, что в последнее время стало меняться отношение общества к проблеме продления жизни. Примером могут служить публикации в американском журнале «Тайм» в 1988 и 1996 гг. В первой из них, озаглавленной «Старость в радость», проводится мысль о том, что главная цель сегодняшней геронтологии состоит не столько в увеличении верхнего предела человеческой жизни, а в том, чтобы сделать жизнь пожилых людей эмоционально насыщенной и менее тягостной в физическом отношении (цит. по: Вишев, 1990, с. 202). Содержание же второй статьи передает ее подзаголовок на обложке журнала: «Сегодня наука ищет способы сохранить нас вечно молодыми» (Kluger, 1996). В выпуске, посвященном 125-летию выхода 1-го номера журнала Science (2005, Vol. 309, July 1), геронтология рассматривается как одно из главных направлений научных исследований в ближайшие 25 лет, а среди актуальных вопросов, стоящих перед современной наукой, находим и прямо обращенный к геронтологам: «На сколько лет может быть увеличена продолжительность жизни человека?»

Подробно состояние, основные достижения и концепции современной геронтологии рассмотрены в следующих главах книги. В данной же главе ниже будут кратко рассмотрены некоторые перспективные направления исследований, связанных с решением проблемы увеличения продолжительности активной жизни.

### **1.6.2. Необходимость автоматизации геронтологических исследований**

Необходимо отметить, что старение является очень сложным феноменом, включающим большое количество взаимозависимых процессов. Так, по некоторым оценкам, для корректировки старения нужно воздействовать на большое количество генов: от нескольких сотен (Растинг, 1993) до нескольких тысяч (Дильман, 1987, с. 157). Помимо всего прочего это означает, что понимание роли одного из них (например, гена теломеразы) и воздействие на него в принципе не способно решить проблему старения, а приведет лишь к сравнительно незначительному продвижению в направлении ее решения. Вследствие подобной сложности необходимым предварительным условием корректировки структуры и функций организма на молекулярном уровне (корректировка на клеточном и организменном уровне в конечном счете все равно сводится к молекулярным изменениям) является преодоление гносеологических препятствий, связанных со сложностью познания процессов старения. Прорыва в этом направлении можно добиться, используя компьютерные технологии, которые могут значительно увеличить аналитические возможности отдельного ученого или небольшого научного коллектива. С их помощью можно собрать воедино множество данных о механизмах старения, что должно включать в себя как клинические и экспериментальные данные, так и модели (преимущественно кибернетические), и проанализировать их как автоматическими средствами, используя подходы искусственного интеллекта и т. д., так и с привлечением групп ученых-экспертов. Автоматический анализ и организацию совместной работы экспертов можно эффективно реализовать посредством международной компьютерной сети Интернет, представляющей собой гигантский суперкомпьютер. Поскольку для осуществления начальных этапов подобного подхода имеются все необходимые технические условия, можно ожидать, что он способен принести достаточно значимые результаты в относительно короткие сроки даже при сравнительно небольшой затрате организационных усилий и финансовых ресурсов.

Результаты автоматизированного системного анализа механизмов старения помогут, во-первых, качественно улучшить планирование экспериментов для получения недостающих данных о старении, что позволит более эффективно использовать имеющиеся исследовательские ресурсы, и, во-вторых, определить «точки», где вмешательство в процесс старения может быть наиболее эффективно. Само же такое вмешательство может быть осуществлено на уровне регуляции генной активности низкомолекулярны-

ми веществами. Однако весьма вероятно, что такой регуляции будет недостаточно, так как она позволяет лишь полностью реализовать существующий потенциал антистарения, который эволюционно ограничен, и необходимо будет осуществлять «перепроектировку» множества структурных и регуляторных генов средствами генной инженерии. Хотя в такого рода перепроектировку могут быть вовлечены сотни и даже тысячи генов, тем не менее при наличии необходимого количества биологических данных и мощных компьютеров, позволяющих создавать и исследовать высокоточные модели биологических систем, решение даже такой сложной задачи представляется вполне осуществимым. В определенной мере эти подходы уже реально осуществляются (Анисимов, 2003; Геронтология in silico..., 2007).

Кроме методов генной инженерии, для перестройки деятельности организма на клеточном и молекулярном уровнях могут быть использованы методы нанотехнологии (Kluger, 1996; Stix, 1996). Поскольку их применение представляется самым перспективным направлением, дающим наиболее высокие шансы для увеличения продолжительности жизни и предупреждения преждевременного старения, эта проблема детально рассмотрена в следующем разделе.

### **1.6.3. Перспективы применения достижений нанотехнологии для решения проблемы продления жизни**

Грядущее на все изменит взгляд,  
И странностям, на выдумки похожим,  
Оглядываясь издали назад,  
Когда-нибудь поверить мы не сможем.

*Борис Пастернак*

Как уже указывалось выше, в современной геронтологии доминирующей становится точка зрения, что первичные причины старения имеют молекулярную природу. Вместе с тем технический прогресс привел к тому, что в настоящее время человечество находится на пороге достижения возможности свободного манипулирования с отдельными атомами и молекулами. Анализ развития этих тенденций, ведущих к «овладению» молекулярным уровнем организации живой материи, позволяет предположить, что через несколько десятилетий подходы к лечению старения претерпят коренные, революционные изменения и в конечном счете их развитие приведет к решению проблемы старения.

Большинство молекул, находящихся в водных растворах, со временем изменяются. В основном это происходит в результате взаимодействия с другими молекулами и атомами (тепловое движение, химические реакции, альфа-радиация) и под действием электромагнитных излучений (ультрафиолет, гамма-радиация). Молекулы могут распадаться на атомы, превращаться в другие молекулы, претерпевать структурные изменения. В случае



сложных молекул последнее подразумевает, что в функциональном отношении молекула остается той же самой. При этом, однако, эффективность выполнения функции может меняться. Ухудшение функционирования молекулы со временем под действием повреждающих факторов может быть рассмотрено как старение на молекулярном уровне.

Одним из основных факторов, вызывающих молекулярные повреждения в живых клетках, являются свободные радикалы — высокореакционные молекулы, имеющие неспаренный электрон. Они образуются в качестве побочного продукта в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий, а также в ряде других реакций обмена веществ (Harman, 1994). Другим опасным фактором является неспецифическое взаимодействие клеточных макромолекул с глюкозой, которая также является соединением, образующимся во многих биохимических реакциях. Сильное разрушающее действие на макромолекулы оказывают и молекулы воды, так как часть из них обладает очень большими скоростями движения (вследствие статистического распределения скоростей движения молекул воды в жидкой фазе) и, следовательно, может легко взаимодействовать с другими молекулами (Виленчик, 1987).

Эти и ряд других повреждающих воздействий приводят к окислению липидов клеточных мембран, инактивации белков-ферментов, гликозилированию структурных белков и образованию между ними поперечных сшивок, мутациям генов, что в свою очередь ведет к постепенному разрушению структуры и ухудшению функционирования клетки: нарушается целостность и проницаемость мембран, падает ферментативная активность, клетка засоряется продуктами обмена, нарушается синтез белков и регуляция клеточных процессов (программируемая клеточная гибель и другие механизмы ограничения срока жизни клетки по сути являются защитной реакцией организма от накопления таких молекулярных повреждений). Причем эти процессы характеризуются положительной обратной связью — неправильное или ухудшенное функционирование молекул приводит к увеличению потока повреждающих воздействий (следствием наличия такой обратной связи является зависимость скорости смертности от самой смертности, послужившая основной гипотезой для вывода уравнения Гомперца). К тому же из-за ухудшения работы клеток и отмирания части из них нарушаются регуляторные процессы и на организменном уровне, что в результате обратной связи приводит к еще большему увеличению повреждающих воздействий на молекулярном уровне. Все это ведет к катастрофическому нарушению регуляции, появлению системных «болезней старения» (большинство форм рака, атеросклероз, гипертония, сахарный диабет), ослаблению сопротивляемости организма стрессорным воздействиям, что с неизбежностью приводит к смерти. Эти вопросы будут рассмотрены в последующих главах.

В период возникновения жизни, в «первичном бульоне» основные молекулы жизни (белки и нуклеиновые кислоты) неизбежно должны были подвергаться повреждающим воздействиям. (Поскольку эти молекулы старели еще до того, как появилась возможность для их саморазмножения, т. е. до

возникновения жизни, то можно сказать, что старение древнее жизни.) Следовательно, возникновение механизмов защиты от них (антистарения) было существенно необходимо для успешного развития жизни. И далее в процессе эволюции происходила конкуренция старения и антистарения (Cutler, 1979; Фролькис, Мурадян, 1992).

В качестве примера механизмов антистарения можно привести осуществляемое супероксиддисмутазой ферментативное превращение супероксидных радикалов в перекись водорода, которая затем расщепляется каталазой на воду и кислород. Другими примерами могут служить группы ферментов, восстанавливающих поврежденные участки молекул нуклеиновых кислот (нуклеазы, полимеразы, лигазы) и расщепляющие окисленные белки (протеиназы и пептидазы) (Растиг, 1993).

Все эти механизмы не обеспечивают абсолютной защиты от повреждающих воздействий. Во многом это объясняется тем, что эволюция действует методом проб и ошибок, т. е. нужное приспособление не появляется сразу и в законченном, совершенном виде. В принципе можно представить, что практически нестареющий организм мог бы появиться (возможно, примером приближения к такому состоянию являются некоторые одноклеточные организмы (Фролькис, Мурадян, 1992)). Но эволюционный «поиск» долгоживущих организмов и закрепление его результатов возможны только в том случае, если такой организм будет иметь эволюционные преимущества, выражающиеся в повышении выживаемости и увеличении численности вида (иначе случайно «найденный» признак «потеряется» в следующих поколениях). Однако для благополучия вида вполне достаточно, чтобы отдельный организм мог достичь репродуктивного возраста и оставить потомство, а что будет с организмом дальше — для вида не имеет значения (или имеет пренебрежимо малое значение). Говоря другими словами, путь повышения репродуктивности и жизнеспособности в молодом возрасте проще и выгоднее для вида (а значит и более вероятен), чем увеличение продолжительности жизни отдельной особи (для этого необходим случайный поиск и, по всей вероятности, скоординированное изменение большого количества функций, вероятность чего очень мала).

Таким образом, из всего вышеизложенного следует, что для эффективной борьбы со старением нужно системно, с учетом всех взаимосвязей на клеточном и организменном уровнях совершенствовать геропротекторные функции организма (прежде всего повышая качество работы «молекул антистарения» и систем, вовлеченных в регуляцию этих процессов), а также видоизменять структуры «молекул старения» таким образом, чтобы при их работе образовывалось как можно меньше опасных побочных продуктов. Часть необходимых для этого операций можно будет проводить средствами генной и белковой инженерии. Однако более универсальным и эффективным средством может оказаться протезирование и хирургия на молекулярном уровне посредством нанотехнологии.

Нанотехнология определяется как технология, основанная на возможности манипулировать отдельными атомами и молекулами с целью создания

достаточно сложных объектов, структура которых может быть описана с точностью до одного атома (Drexler, 1986). Этот термин также используется и для обозначения области науки и техники, связанной с разработкой устройств, позволяющих производить подобные манипуляции. Название нанотехнология происходит от слова нанометр — одна миллиардная доля метра (величина, равная нескольким межатомным расстояниям).

Впервые мнение о принципиальной возможности построения любых материальных объектов «атом за атомом» и о неизбежности развития технологии в этом направлении высказал известный американский физик, лауреат Нобелевской премии Р. Фейнман в 1959 г. в своей речи на ежегодном собрании Американского физического общества (Feynman, 1961). Первым шагом на пути реализации таких возможностей стало создание в 1981 г. сотрудниками фирмы IBM Г. Биннигом и Г. Рорером сканирующего электронного микроскопа (Binnig, Rohrer, 1986) (за это изобретение им была присуждена Нобелевская премия). Принцип действия этого устройства состоит в следующем. При движении тонкой иглы на очень малом расстоянии над поверхностью, проводящей электричество, из-за эффекта квантового туннелирования электронов возникает ток утечки. Поддерживая этот ток на постоянном уровне путем приближения иглы к поверхности или удаления от нее можно получить профиль поверхности с атомарным разрешением. Если же на иглу подать большее напряжение, чем нужно для измерения профиля, то при определенных условиях атом может оторваться от поверхности и присоединиться к игле, что позволяет перенести его в другое место и опустить обратно на поверхность. В дальнейшем был создан ряд устройств со сходными принципами работы (Pool, 1990). Для биологических исследований наибольший интерес представляет атомно-силовой микроскоп, принцип действия которого основан на механическом взаимодействии иглы с веществом (т. е. в этом случае не требуется, чтобы исследуемый объект проводил электрический ток).

В настоящее время различным аспектам нанотехнологии посвящены многочисленные исследования. Основные усилия ученых сконцентрированы на уменьшении размеров вычислительных устройств, создании механических устройств субмикронных размеров (электрических двигателей, трансмиссий и т. п.) и синтезе наноструктур химическими методами (Stix, 1996). Применяются достижения этих направлений нанотехнологии в биологии и медицине — например, для изготовления сверхчувствительных биосенсоров для детекции молекул (Baselt et al., 1997).

Однако, по всей вероятности, наиболее перспективными с точки зрения применения в медицине могут оказаться результаты исследований в области, называемой молекулярной нанотехнологией. Большой вклад в возникновение интереса к данному направлению исследований и в его дальнейший прогресс внес американский ученый Э. Дрекслер, первая статья которого по этой проблеме была опубликована в 1981 г. (Drexler, 1981). Основной задачей здесь является создание молекулярных роботов — устройств молекулярных размеров, снабженных детекторами, манипулято-

рами и встроенным компьютером. Планируется, что они будут изготавливаться из искусственно синтезируемых углеродных цепочек или на основе биологических макромолекул (Edelstein, 1995). Принципы их работы будут напоминать механизмы действия белковых молекул. В основном это будут конформационные изменения молекулярной структуры, результатом которых может быть детекция определенной молекулярной поверхности, изменение химических связей в обнаруженных и опознанных молекулах, а также изменение собственного состояния робота (ряд последовательных изменений состояния эквивалентен производству некоторых вычислительных и логических операций).

Для медицинских применений, помимо возможности детекции и манипулирования биомолекулами, важной проблемой является энергоснабжение молекулярных роботов и их взаимодействие во время нахождения внутри организма с находящимся вне организма суперкомпьютером, который управляет их работой. Здесь перспективным представляется использование магнитного поля, поскольку биологические ткани прозрачны для него (другим вариантом может быть использование акустических волн). Магнитное поле может изменять структуру молекулярных роботов, заряжая ее энергией и сообщая информацию, а для сообщения информации управляющему компьютеру молекулярный робот может сам изменять свою структуру, что будет зарегистрировано датчиками, расположенными вне тела человека. Аналогом такого подхода является томография на основе ядерного магнитного резонанса — метод, который сейчас широко используется для получения трехмерных изображений внутренних органов в реальном времени.

Первоначально основными элементами технологии изготовления молекулярных роботов будут биотехнология и органический синтез. Процесс их изготовления будет напоминать существующие биотехнологические методы, которые на сегодняшний день выглядят примерно так: синтезируется ген, кодирующий структуру белка (в будущем — молекулярного робота); этот ген внедряется в бактерии, которые размножаются и синтезируют белок в необходимом количестве; далее (при необходимости) белок модифицируется химическим способом. По мере развития нанотехнологии на смену этому процессу придет другой, основанный на саморазмножении молекулярных роботов (Drexler, 1986). Такая способность будет заложена либо в молекулярный робот сложной конструкции, либо к саморазмножению будет способен коллектив относительно простых роботов, отдельные группы которого будут специализированы на выполнении какой-либо одной функции — аналогом такого коллектива может быть пчелиная или муравьиная семья.

Главной проблемой, препятствующей разработке и внедрению молекулярных роботов, является их проектирование. Основным элементом такого проектирования — моделирование поведения роботов. Эта задача примерно того же порядка сложности, что и моделирование динамики белковых молекул. Хотя его алгоритмы известны, но большой размер молекул не позволяет осуществить их моделирование в приемлемые сроки при помощи

современных компьютеров. Оценки тенденций развития вычислительной техники (Borchers, 1997; Messina, 1997) позволяют предположить, что компьютеры смогут достичь мощности, необходимой для такого моделирования лишь в 2010—2015 гг.

Поскольку другие элементы технологии изготовления белковоподобных молекулярных роботов практически уже существуют, можно прогнозировать, что молекулярная нанотехнология может быть реализована вскоре после этого времени. С учетом необходимости разработки конкретных типов молекулярных роботов и проведения дополнительных молекулярно-биологических исследований (направленных как на получение недостающих данных о функционировании биомолекул и клеток, так и на экспериментальное тестирование взаимодействия молекулярных роботов и клеточных структур), можно ожидать, что описанные ниже возможности будут доступны во второй четверти XXI в. Однако при благоприятном развитии событий отдельные элементы описанной ниже процедуры лечения старения могут начать внедряться в практику уже в конце следующего десятилетия. Например, это может быть противодействие какой-либо одной причине старения посредством простых, автономно функционирующих молекулярных роботов, конструкция которых не сильно отличается от таковой обычных белков. В отличие от более сложных, универсальных роботов их разработка (по крайней мере, в принципе) может быть проведена без больших вычислительных затрат — сочетанием компьютерной «искусственной эволюции» (Kaehler, 1995) и биохимической «эволюции в пробирке» (Beaudry, Joyce, 1992). Имеются сообщения о первых достижениях в этой области, в частности, о разработке метода сборки медицинских наночастиц из молекул и прототипа миниатюрного робота-хирурга, создании молекулярных «ножниц» (Батин, 2007).

### Л и т е р а т у р а

*Александрова М. Д.* Проблемы социальной и психологической геронтологии. Л.: Изд-во ЛГУ, 1974. 136 с.

*Амосов Н. М.* Будущая кибернетика в будущей медицине // Прогресс биологической и медицинской кибернетики / Под ред. А. И. Берга и С. Н. Брайнеса. М.: Медицина, 1974. С. 111—154.

*Анисимов В. Н.* Современные представления о природе старения // Успехи соврем. биол. 2000а. Т. 120. С. 146—164.

*Анисимов В. Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003. 468 с.

*Анисимов В. Н., Соловьев М. В.* Эволюция концепций в геронтологии. СПб.: Эскулап, 1999. 130 с.

*Антомонов Ю. Г.* Моделирование биологических систем: Справочник. Киев: Наукова думка, 1977. 260 с.

*Аполлодор.* Мифологическая библиотека. Л.: Наука, 1972. 215 с.

*Батин М.* Лекарства от старости. Кострома, 2007. 66 с.

*Бауэр Э. С.* Теоретическая биология. М.; Л.: Изд-во Всесоюзного института экспериментальной медицины, 1935. 206 с.

- Белов Н. А. Физиология типов: Опыт исследования психофизических особенностей личности в зависимости от эргоногенеза. Орел: Красная книга, 1924. 246 с.
- Беркинблит М. Б., Гаазе-Рапопорт М. Г. Применение математики и кибернетики в биологии // История биологии (с начала XX века до наших дней) / Под ред. Л. Я. Бляхера. М.: Наука, 1975. С. 579—599.
- Бернштейн Н. А. О перспективах математики в биокибернетике. Предисловие // Черныш В. И., Напалков А. В. Математический аппарат биологической кибернетики. М.: Медицина, 1964. С. 3—30.
- Биология старения: Руководство. Л.: Наука, 1982. 616 с.
- Богомолец А. А. Продление жизни. Киев: Изд-во АН УССР, 1940. 144 с.
- Бойс М. Зороастрийцы. Верования и обычаи. СПб.: Центр «Петербургское востоковедение», 1994. 288 с.
- Бусленко Н. П. Моделирование сложных систем. М.: Наука, 1978. 400 с.
- Бэкон Ф. Новая Атлантида. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 238 с.
- Васильев Л. С. Культы, религии, традиции в Китае. М.: Наука, 1970. 484 с.
- Ванюшин Б. Ф., Бердышев Г. Д. Молекулярно-генетические механизмы старения. М.: Медицина, 1975. 295 с.
- Виленчик М. М. Молекулярно-генетические механизмы старения. М.: Наука, 1970. 168 с.
- Виленчик М. М. Биологические основы старения и долголетия. М.: Знание, 1987. 224 с.
- Вишев И. В. Проблема личного бессмертия. Новосибирск: Наука, 1990. 248 с.
- Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С. Биология продолжительности жизни. Количественные аспекты. 2-е изд. М.: Наука, 1991. 280 с.
- Гартман Ф. Жизнь Парацельса и сущность его учения. М.: Новый Акрополь, 1997. 288 с.
- Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г. И. Марчука, В. Н. Анисимова, А. А. Романюхи, А. И. Яшина. М.: Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 535 с.
- Грмек М. Д. Геронтология — учение о старости и долголетию. М.: Наука, 1964. 132 с.
- Гуфеланд Х. Искусство продлевать человеческую жизнь (Макробиотика) // Время жить. СПб.: ТОО «Лейла», 1996. С. 3—226.
- Давыдовский И. В. Геронтология. М.: Медицина, 1966. 300 с.
- Дастр А. Жизнь и смерть. Ч. 2. СПб.: Мысль, 1914. 144 с.
- Дильман В. М. Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.
- Дупленко Ю. К. Старение. Очерки развития проблемы. Л.: Наука, 1985. 192 с.
- Ильинский Б. В. Георгий Федорович Ланг. Л.: Наука, 1985. 173 с.
- История биологии (с древнейших времен до начала XX века) / Под ред. С. Р. Микulinского. М.: Наука, 1972. 563 с.
- История биологии (с начала XX века до наших дней) / Под ред. Л. Я. Бляхера. М.: Наука, 1975. 660 с.
- Карсаевская Т. В., Шаталов А. Т. Философские аспекты геронтологии. М.: Наука, 1978. 216 с.
- Кольтовер В. К. Свободно-радикальная теория старения: современное состояние и перспективы // Успехи геронтол. 1998. Т. 2. С. 37—42.
- Комфорт А. Биология старения. М.: Мир, 1967. 400 с.
- Кропоткин П. А. Этика: Избранные труды. М.: Политиздат, 1991. 496 с.
- Крылов В. Ю., Морозов Ю. И. Кибернетические модели и психология. М.: Наука, 1984. 174 с.
- Кузнецова Н. И. Проблемы возникновения науки // Философия и методология науки / Под ред. В. И. Купцова. М.: Аспект Пресс, 1996. С. 38—56.
- Кун Н. А. Легенды и мифы древней Греции. М.: Просвещение, 1975. 463 с.
- Курицмен Дж., Гордон Ф. Да сгинет смерть! М.: Мир, 1982. 216 с.
- Ланг Г. Ф. Избранные труды. М.: Медицина, 1975. 232 с.
- Ляпунов А. А. О рассмотрении биологии с позиции изучения живой природы как большой системы // Проблемы методологии системного исследования / Под ред. И. В. Блауберга и др. М.: Мысль, 1970. С. 184—226.

- Метальников С. И.* Проблема бессмертия в современной биологии. Петроград, 1917. 64 с.
- Мечников И. И.* Сорок лет искания рационального мировоззрения // Акад. собр. соч. Т. 13. М.: Гос. изд.-во медицинской литературы, 1954. С. 7—224.
- Мечников И. И.* Этюды оптимизма. М.: Наука, 1988. 328 с.
- Моисеев Н. Н.* Математические задачи системного анализа. М.: Наука, 1981. 488 с.
- Нагорный А. В.* Проблема старения и долголетия. Харьков: ХГУ, 1940. 446 с.
- Никитин В. Н.* Экспериментальные подходы к продлению жизни // Биология старения / Отв. ред. В. В. Фролькис. Л.: Наука, 1982. С. 548—568.
- Петров С.* Познание как моделирование // Ленинская теория отражения и современность / Гл. ред. Т. Павлов. София: Наука и искусство, 1969. С. 291—318.
- Петрова М. К.* О роли функционально-ослабленной коры головного мозга в возникновении различных патологических процессов в организме. Л.: Медгиз, 1946. 95 с.
- Пионтковский И. А.* Учение И. И. Мечникова об ортобиозе // Акад. собр. соч. Т. 12. М.: Гос. изд.-во медицинской литературы, 1956. С. 265—289.
- Пушкин В. Н.* Психология и кибернетика. М.: Педагогика, 1971. 232 с.
- Рабинович В. Л.* Алхимия как феномен средневековой культуры. М.: Наука, 1979. 391 с.
- Растинг Р. Л.* Почему мы стареем? // В мире науки. 1993. № 2—3. С. 77—86.
- Спасокукоцкий Ю. А., Барченко Л. И.* Влияние биологически активных веществ на процессы старения // Биология старения / Отв. ред. В. В. Фролькис. Л.: Наука, 1982. С. 586—600.
- Стулова Э. С.* Даосская практика достижения бессмертия // Из истории традиционной китайской идеологии / Под ред. О. Л. Фишмана. М.: Наука, 1984. С. 230—270.
- Тишков А. А.* У истоков геронтологии // Мечников И. И. Этюды оптимизма. М.: Наука, 1987. С. 277—313.
- Томилин С. А.* Вклад русских ученых в изучение проблемы долголетия // Врачебное дело (Киев). 1951. № 2. С. 177—180.
- Торчинов Е. А.* Даосизм: опыт историко-религиозного описания. СПб.: Лань, 1998. 448 с.
- Федоров В. Д., Гильманов Т. Г.* Экология. М.: Изд. МГУ, 1980. 464 с.
- Франц М.-Л. фон.* Алхимия. СПб.: Б.С.К., 1997. 291 с.
- Фролов В. А.* Из когорты энциклопедистов // Мечников И. И. Пессимизм и оптимизм. М.: Советская Россия, 1989. С. 5—60.
- Фролькис В. В.* Регулирование, приспособление и старение. Л.: Наука, 1970. 432 с.
- Фролькис В. В., Мурадян Х. К.* Экспериментальные пути продления жизни. Л.: Наука, 1988. 248 с.
- Фролькис В. В., Мурадян Х. К.* Старение, эволюция и продление жизни. Киев: Наукова думка, 1992. 336 с.
- Хавинсон В. Х., Романов В. В., Коровин А. Е., Ульянов Т. В.* Коренчевский Владимир Георгиевич — выдающийся отечественный геронтолог и патофизиолог, профессор Императорской военно-медицинской академии // Клинич. патофизиология. 2002. № 1. С. 60—64.
- Холл М. П.* Энциклопедическое изложение масонской, герметической, каббалистической и розенкрейцеровской символической философии. Новосибирск: Наука, 1997. 794 с.
- Целлер Э.* Очерк истории греческой философии. СПб.: Алтейя, 1996. 296 с.
- Шмальгаузен И. И.* Проблема смерти и бессмертия. М.; Л.: Гос. изд.-во, 1926. 92 с.
- Шмидт П. Ю.* Борьба со старостью. Л.: Гос. изд.-во, 1924. 80 с.
- Якобсен Т.* Сокровища тьмы: История месопотамской религии. М.: Изд. фирма «Восточная литература» РАН, 1995. 293 с.
- Andrews G. R., Sidorenko A., Andrianova L. F., Anisimov V. N. et al.* The United Nation research agenda on ageing for the 21<sup>st</sup> century // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 7—25.
- Baselt D. R., Lee G. U., Hansen R. M. et al.* A high-sensitivity micromachined biosensor // Proceedings of the IEEE. 1997. Vol. 85, N 4. P. 672—680.
- Beaudry A.A., Joyce G.F.* Directed evolution of an RNA enzyme // Science. 1992. Vol. 257. P. 635—641.
- Binning G., Rohrer H.* Scanning tunnelling microscopy // IBM J. Res. Dev. 1986. Vol. 30. P. 355—370.

- Borchers R. R.* When the computing was easy: Some reflections on the state of the art in high-speed computation // *Computers in Physics*. 1997. Vol. 11. P. 564—569.
- Brody J. A., Schneider E. L.* Diseases and disorders of aging: an hypothesis // *J. Chron. Dis.* 1986. Vol. 39. P. 871—876.
- Cutler R. G.* Evolution of human longevity: A critical overview // *Mech. Aging Dev.* 1979. Vol. 9. P. 337—354.
- Drexler K. E.* Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1981. Vol. 78. P. 5275—5278.
- Drexler K. E.* *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology*. New York etc.: Anchor Books, 1986. 298 p.
- Edelstein M.* Biotechnology as an enabling technology // *Prospects in Nanotechnology: Toward Molecular Manufacturing* / Ed. M. Krummenacker, J. Lewis. New York etc.: John Wiley & Sons, 1995. P. 67—91.
- Ezzati M., Hoorn S. V., Rodgers A. et al.* Estimates of global and regional potential health gains reducing multiple major risk factors // *Lancet*. 2003. Vol. 326. P. 271—290.
- Feynman R. P.* There's plenty of room at the bottom // *Miniaturization* / Ed. H. D. Gilbert. New York: Reinhold, 1961. P. 282—296.
- Freeman J. T.* *Aging: Its History and Literature*. New York; London: Human Sciences Press, 1979. 161 p.
- Gruman G. J.* A History of ideas about the prolongation of life // *Transact. Amer. Philosoph. Soc.* 1966. Vol. 56, Part 9. P. 3—102.
- Harman D.* Free-radical theory of aging: invreasing the functional life span // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 717. P. 1—15.
- Kaehler T.* Designing molecular components // *Prospects in Nanotechnology: Toward Molecular Manufacturing* / Eds M. Krummenacker, J. Lewis. New York: John Wiley & Sons, 1995. P. 53—66.
- Kluger J.* Can we stay young? // *Time*. 1996. Vol. 148, N 24. P. 57—63.
- Messina P.* High-Performance Computers: The Next Generation (Part II) // *Computers in Physics*. 1997. Vol. 11, N 6. P. 598—610.
- Metchnikoff E.* *Etudes sur la nature humaine: Essai de philosophie optimiste* // Paris: Masson & C-ie, 1903. 399 p.
- Nascher I. L.* *Geriatrics* // *New York Medical Journal*. 1909. Vol. 90, N 8. P. 358—359.
- Oeppen J., Vaupel J. W.* Broken limits to life expectancy // *Science*. 2002. Vol. 296. P. 1029—1031.
- Partridge L., Barton N. H.* Optimality, mutation and the evolution of aging // *Nature*. 1993. Vol. 361. P. 305—311.
- Pool R.* The children of the STM // *Science*. 1990. Vol. 247. P. 634—636.
- Sohal R. S., Weindruch R.* Oxidative stress, caloric restriction, and aging // *Science*. 1996. Vol. 273. P. 59—63.
- Stix G.* Waiting for breakthroughs // *Scientific American*. 1996. Vol. 274, N 4. P. 78—83.
- The Aging Factor in Health and Disease. Workshop Report. N. Y.: International Longevity Center, USA, Ltd., 1999. 24 p.



## Глава 2

# ТЕОРИИ И МОДЕЛИ СТАРЕНИЯ И СМЕРТНОСТИ

Теории люблю, похожие на чудо,  
Где логика опережает факт упрямый.  
Пусть прелесть их наутро позабудут,  
Но к истине они ведут, хотя не прямо.

*В. А.*

### 2.1. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ

#### 2.1.1. Классификации теорий старения

Тихо приветствую мудрость  
любезной природы —  
Ловкой рукою она ярлыки налепляет.

*Саша Черный*

В современной геронтологии не наблюдается значительного прорыва в теоретическом осмыслении проблемы происхождения и механизмов старения. В своей часто цитируемой работе, посвященной классификации теорий старения, Ж. А. Медведев (Medvedev, 1990) насчитал более 300 теорий, ни одна из которых, по его мнению, не обладает качествами действительно теории старения, и в лучшем случае некоторые из них могли бы быть названы гипотезами. Пожалуй, наиболее яркими теориями остаются выдвинутая в 1956 г. Д. Харманом свободнорадикальная теория (Harman, 2006), теория клеточного (репликативного) старения Л. Хейфлика (Hayflick, Moorhead, 1961; Hayflick, 1998), теломерная теория А. М. Оловникова (Оловников, 1971; Olovnikov, 1996), элевационная теория старения В. М. Дильмана (Дильман, 1987; Dilman, 1971, 1994) и теория расходуемой сомы Т. Кирквуда (Kirkwood, 1997, 2002).

В табл. 2.1 представлен перечень основных теорий старения, которые традиционно можно разделить на вероятностные (стохастические) теории и теории программированного старения.

В. М. Дильман (1987) полагал, что в соответствии с четырьмя моделями возникновения болезней (экологической, генетической, аккумуляционной и онтогенетической) все существующие теории старения могут быть классифицированы (табл. 2.2).

В целом, следует признать, что в настоящее время при рассмотрении причин и механизмов старения наблюдается переплетение как различных, так и сходных процессов, которые могут быть интерпретированы в рамках как стохастического, так и программированного подходов. Оправданными

**Таблица 2.1**

**Теории стохастического и программированного старения  
(Schulz-Aellen, 1997, с дополнениями)**

Теория	Основные положения	Современное состояние
<b>Стохастические теории</b>		
Теория соматических мутаций	Соматические мутации нарушают генетическую информацию и уменьшают функцию клеток	Современные данные поддерживают теорию
Катастрофа ошибок	Ошибки процессов транскрипции и/или трансляции уменьшают эффективность клеток	Оригинальная теория отвергнута, но модификации теории плодотворны
Повреждения ДНК, репарация ДНК	Повреждения ДНК постоянно репарируются различными механизмами. Эффективность репарации положительно коррелирует с продолжительностью жизни и уменьшается с возрастом	Современные данные поддерживают теорию
Повреждения белков	Конформационные нарушения белков и ферментов (перекрестные сшивки) повреждают функцию клетки	Подтверждены
Перекрестные сшивки	Химические перекрестные сшивки важных макромолекул (например, коллагена) приводят к нарушениям функции клеток и тканей	»
Износ	Накопление повреждений в повседневной жизни уменьшает эффективность организма	Возможен
<b>Теории программированного старения</b>		
Генетические теории	Старение вызывается запрограммированными изменениями экспрессии генов, или экспрессией специфических белков	Подтверждены
Гены смерти	Существуют гены клеточной гибели	»
Избирательная гибель	Гибель клетки обусловлена наличием специфических мембранных рецепторов	Современные данные поддерживают теорию
Укорочение теломер	Укорочение теломер с возрастом <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> приводит к нестабильности хромосом и гибели клеток	То же
Нарушения дифференцировки	Ошибки в механизмах активации-репрессии генов, приводящие к синтезу избыточных, несущественных или ненужных белков	Возможны
Накопление «загрязнений»	Накопление отходов метаболизма снижает жизнеспособность клеток	Подтверждается в ряде случаев
Нейроэндокринные теории	Недостаточность нервной и эндокринной систем в поддержании гомеостаза. Потеря гомеостаза приводит к старению и смерти	Подтверждена в отношении женской репродуктивной системы и ряде специфических ситуаций

**Таблица 2.1** (продолжение)

Теория	Основные положения	Современное состояние
Иммунологическая теория	Определенные аллели могут увеличивать или сокращать продолжительность жизни	Современные данные поддерживают теорию
Метаболические теории	Долголетие обратно пропорционально скорости метаболизма	Отвергнуты
Свободнорадикальная теория	Долголетие обратно пропорционально степени повреждения свободными радикалами и прямо пропорционально эффективности антиокислительных систем	Современные данные поддерживают теорию
Часы старения	Старение и смерть являются результатом predetermined биологического плана	То же
Эволюционные теории	Естественный отбор устраняет индивидуумов после того, как они произведут потомство	Потверждается в ряде случаев

**Таблица 2.2**

**Теории старения (Дильман, 1987)**

Группа теорий старения	Теории
Клеточные (вероятностные) теории	Теория соматических мутаций Генетическая мутационная теория Теория накопления ошибок
Клеточные (регулярные) теории	Теория свободных радикалов Теория сшивки макромолекул Теория накопления липофусцина Теория износа организма
Клеточные программные теории	Лимит Хейфлика Теория конечной дифференцировки
Системные запрограммированные теории	Системные регулярные теории старения: иммунологическая аутоиммунологическая антагонистической плейотропии нейроэндокринная гипоталамическая генно-регуляторная элевационная (интегральная)

представляются попытки рассмотрения старения как интегрального процесса, создаваемого онтогенетическими и аккумуляционными механизмами, на которые в свою очередь влияют генетические и экологические факторы (Дильман, 1987).

Рассматривая общие причины и механизмы старения, В. И. Донцов и соавт. (2002) выделяют четыре общих типа старения:

- 1) недостаточность проточности системы («загрязнение» организма);
- 2) недостаточность действия отбора для сохранения только нужных структур в пределах данной системы;
- 3) недостаточность самокопирования элементов системы (гибель необновляющихся элементов организма);
- 4) ухудшение функции регуляторных систем.

Авторы подчеркивают, что основные типы старения могут проявляться бесконечным числом конкретных механизмов старения как в одном организме, так и для организмов разных видов.

S. Rattan (2006), отмечая, что традиционное деление теорий старения на теории программированного старения и стохастические теории в настоящее время звучит достаточно старомодно и действительно устарело, указывает на те принципы, которые могут быть положены в основу унифицированной теории старения. Это эволюционный подход, учет молекулярных, генетических, постгенетических и эпигенетических факторов старения, а также гомеостаза или гомеодинамики биологических систем.

В обзоре современных теорий старения (Yin, Chen, 2005) приведена классификация, согласно которой все теории сгруппированы на основании уровня интеграции: организменном, органном, клеточном и молекулярном (табл. 2.3).

Авторы этой классификации отмечают, что 24 из 28 упомянутых ими теорий рассматривают старение как следствие разнообразных внешних воздействий на процесс жизни, т. е. определяют старение как пассивное накопление повреждений. Среди четырех теорий старения, которые были классифицированы как теории «программированного старения», особо выделена теория «клеточного старения», базирующаяся на данных по пролиферативному старению и укорочению теломер. Указывается, что эта теория существенно отличается от теорий старения организма в целом. D. Yin и K. Chen (2005) подчеркивают, что термин «неделящиеся клетки» не означает «старые клетки», поскольку постмитотические нейроны и большинство миоцитов, хотя и не пролиферируют после завершения дифференцировки в период эмбриогенеза, могут оставаться неповрежденными в организме на протяжении всей жизни. Более того, укорочением теломер трудно объяснить снижение функций целого организма при старении животных.

В. А. Кордюм (2006) замечает, что почти все определения старения состоят из самых общих фраз типа «угасания жизненных сил...» или «снижения функциональной активности...». Единственно четкое определение, учитывающее реальность и способность ее просчитать, принимает как ко-

**Таблица 2.3**  
**Классификация важнейших теорий старения по уровню интеграции**  
**(Yin, Chen, 2005)**

Уровень интеграции	Теория	Авторы
Организмальный	Теория изнашивания	Sacher, 1966
	Теория катастрофы ошибок	Orgel, 1963
	Теория стрессового повреждения	Selye, 1970
	Теория аутоинтоксикации	Metchnikoff, 1904
	Эволюционная теория (теория программированного старения?)	Williams, 1957
	Теория сохранения информации (теория программированного старения)	
Органный	Эндокринная теория	Korenchevsky, 1961
	Иммунологическая теория	Walford, 1969
	Торможение головного мозга	
Клеточный	Теория клеточных мембран	Zg-Nagy, 1978
	Теория соматических мутаций	Szillard, 1959
	Митохондриальная теория	Miquel et al., 1980
	Митохондриально-лизосомальная теория	Brunk, Terman, 2002
	Теория пролиферативного лимита клетки (теория программированного старения)	Hayflick, Moorhead, 1961
Молекулярный	Теория накопления повреждений ДНК	Vilenchik, 1970
	Теория следовых элементов	Eichhorn, 1979
	Свободнорадикальная теория	Harman, 1956
	Теория поперечных сшивок	Bjorksten, 1968
	Теория окислительного стресса	Sohal, Allen, 1990; Yu, Yang, 1996
	Теория неэнзиматической гликозиляции	Cerami, 1985
	Теория карбонильной интоксикации	Yin, Brunk, 1995
	Теория катастрофы загрязнения	Terman, 2001
	Теория генных мутаций	
	Теория укорочения теломер (теория программированного старения)	Оловников, 1971
	Теория старения как энтропии	
Прочие подходы	Старение как энтропия	Sacher, 1967; Bortz, 1986
	Математические теории и различные унифицированные теории	Sohal, Alle, 1990; Zg-Nagy, 1991; Kowald, Kirkwood, 1994

нечную точку отсчета жизни ее прекращение, т. е. смерть. И определяет старение через продолжительность жизни, другими словами, фактически подменяет процесс его конечным результатом. При такой трактовке, полагает автор, на самом деле многое просчитывается, но только на статистическом, популяционном уровне. Для популяции причины смертности действительно разные, тогда как для индивидуума они всегда вполне конкретные. Если даже убрать, подчеркивает В. А. Кордюм, все эти частные причины, исключить несчастные случаи, радикально излечить ведущие патологии,

создать идеальную экологию, полностью обеспечить все мыслимые бытовые и социальные условия, т. е. убрать все внешние неблагоприятные факторы и болезни, то остается неустранимая природа старения — полное одряхление организма, при котором существование становится уже несовместимым ни с какими самыми оптимальными условиями. Вот такой «сухой остаток» и принимается как старение. И именно его механизмы, его первооснову и пытаются объяснить теории, которые в пределе сводятся к двум группам — стохастической (сумме неблагоприятных случайных событий) и программируемой (старение — это заложенная природой, эволюцией и т. д. программа).

Общие положения представлений о запрограммированной смерти сводятся к тому, что старые организмы занимают экологическую нишу, имеющую вполне определенную емкость для заселения и, таким образом, «не пускают» в жизнь молодняк. Поэтому смерть предусмотрена программой, так как «полезна для вида». Все приводимые в подтверждение этого примеры, например гибель бабочек после производства потомства или растений после плодоношения, никакого отношения к старению, замечает В. А. Кордюм (2006), не имеет. Включается не старение, а самоуничтожение в молодом, т. е. полном сил возрасте.

### **2.1.2. Свободнорадикальная теория старения: основные положения**

Одной из наиболее плодотворно развивающихся в последние годы фундаментальных теорий является свободнорадикальная теория старения, практически одновременно выдвинутая в 1956 г. D. Harman (Harman, 1956, 2006) и в 1958 г. Н. М. Эмануэлем (Эмануэль, 1975; Emanuel, 1985) (рис. 2.1 и 2.2). Эта теория объясняет не только механизм старения, но и широкий круг связанных с ним патологических процессов (сердечно-сосудистые заболевания, возрастные иммунодепрессия и дисфункция мозга, катаракта, рак и некоторые другие).

Согласно этой теории, продуцируемые главным образом в митохондриях клеток молекулы супероксида ( $O_2^{\cdot-}$ ),  $H_2O_2$ , гидроксильного радикала ( $HO^{\cdot}$ ) и, возможно, синглетного кислорода ( $^1O_2$ ) повреждают клеточные макромолекулы (ДНК, белки, липиды). Полагают, что активные формы кислорода (АФК) вызывают повреждения мембран, коллагена, ДНК, хроматина, структурных белков и участвуют в регуляции внутриклеточного уровня кальция и т. д. (Culter, 1991; Papa, Skulachev, 1997; Кольтовер, 1998; Skulachev, 2004; Varja, 2002, 2004; Хавинсон и др., 2003; Harman, 2006). При этом старение и болезни, ассоциированные со старением, обусловлены накоплением с возрастом окислительных повреждений ДНК, белков, липидов и других существенных для жизни макромолекул.

Подсчитано, что за 70 лет жизни человека организм производит около одной тонны радикалов кислорода, хотя только 2—5 % вдыхаемого с возду-



Рис. 2.1. Д. Харман (род. в 1916 г.).

хот кислорода превращается в его токсические радикалы. В клетке крысы может возникать до  $10^4$  вызванных активными формами кислорода повреждений ДНК в день (Ames et al., 1993) и при постоянных условиях до 10 % молекул белка могут иметь карбонильные модификации.

Источниками продукции свободных радикалов в организме являются:

- митохондриальные цепи переноса электронов;
- микросомальное окисление ксенобиотиков и физиологически активных веществ;
- ксантиноксидаза и другие оксидазы цитозоля;
- фагоцитирующие клетки (НАДФН-оксидаза);
- окисление гемоглобина и миоглобина;
- аутоокисление восстановленных молекул;
- ультрафиолет и фотохимические реакции;
- ионизирующие излучения.



Рис. 2.2. Н. М. Эмануэль (1915—1984).

В клетках мишенями свободных радикалов являются плазматические и внутриклеточные мембраны (липиды и белки), эндоплазматический ретикулум, белки цитозоля, митохондриальная и ядерная ДНК, рецепторные молекулярные комплексы, а внеклеточными мишенями являются липопротеины и соединительная ткань. Механизмы повреждения макромолекул и их значение для старения будут рассмотрены ниже.

### 2.1.3. Митохондриальная теория старения

В последние годы получила развитие так называемая митохондриальная теория старения, в основе которой лежат два предположения (Linnane et al., 1989).

Во-первых, предполагается, что мутации митохондриальной ДНК (мтДНК) накапливаются с возрастом и могут достигать значительной частоты. Однако само по себе это предположение не может объяснить роль мтДНК в старении, поскольку каждая клетка содержит несколько митохондриальных геномов. Случайный мутагенез будет приводить к формированию смеси различных типов мутантных молекул и молекул дикого типа. Необходим специальный механизм, который сможет обеспечить создание достаточно высокой концентрации фенотипически значимых мутантов, способных преодолеть фенотипический порог (Khrapko et al., 2003; Kraytberg et al., 2003).

Во-вторых, предполагается, что мутации мтДНК распределяются таким образом, что каждая клетка содержит одну мутацию или, главным образом, один тип мутаций. При этом мутация может полностью реализовать свою потенциальную возможность нарушить физиологию клетки и тем самым быть активно вовлеченной в процесс старения. Хотя прямых доказательств того, что мутации в мтДНК вызывают значимые для старения эффекты, еще



мало (за исключением, пожалуй, саркопении), исследования самого последнего времени полностью подтвердили оба упомянутых предположения, тем самым укрепив митохондриально-мутационную теорию старения (de Grey, 2002; Krauttsberg et al., 2003). Экстраполяция кривой экспоненциального накопления повреждений мтДНК (как точечных мутаций, так и делеций) до уровня 100 % в клетках сердца человека дает оценку 129 лет. Повреждения мтДНК приводят к нарушению дыхания митохондрий, что увеличивает образование АФК, и соответственно к новым повреждениям мтДНК.

Было убедительно показано, что у пластинчатых грибов *Podospora anserina* старение обусловлено нестабильностью мтДНК, а именно накоплением кольцевой многомерной молекулы ДНК, называемой senДНК (Dufour et al., 2000). Авторы установили, что инактивация ядерного гена COX5, кодирующего субъединицу V комплекса цитохром с оксидазы, приводит у этих грибов к использованию альтернативного дыхательного пути и уменьшению продукции АФК, что сопровождается существенным увеличением продолжительности жизни, ассоциированной со старением митохондриальной хромосомы. Более того, эта мутация предотвращает накопление senДНК в митохондриях.

Сторонники митохондриальной теории старения полагают, что в основе старения лежит прогрессивная потеря функции митохондрий в различных тканях организма (Gershon, 1999; Varja, 2004; Трубицын, 2006). В пользу такой точки зрения свидетельствуют следующие данные:

- накопление больших делеций и точечных мутаций в мтДНК тканей пожилых индивидуумов и уменьшение количества их копий;
- снижение с возрастом активности ферментов, обеспечивающих перенос электронов в дыхательной цепи, в лимфоцитах, скелетных мышцах и кардиомиоцитах;
- как следствие этих процессов — увеличение продукции АФК и прогрессивное перекисное окисление липидов и белков мембран;
- изменения морфологической структуры митохондрий и снижение мембранного потенциала митохондрий, обеспечивающего энергию для синтеза АТФ;
- клетки молодых крыс быстро стареют и подвергаются дегенерации, когда в них с помощью микроинъекций вводят митохондрии из фибробластов старых крыс;
- установлена обратная корреляция между продукцией перекиси водорода, митохондриями и максимальной продолжительностью жизни вида.

Митохондрии старых крыс продуцируют большее количество продуктов окисления (Ames, 2006). Обсуждается роль дефицита микроэлементов, в частности витаминов в развитии митохондриальной недостаточности и возрастных дегенеративных заболеваний (Ames, 2006).

Наследуемая по материнской линии мтДНК реплицируется в течение всей жизни организма как в пролиферирующих, так и в постмитотических клетках, что в конечном счете приводит к тому, что частота мутаций мтДНК во много раз превышает таковую в ядерной ДНК. В значительной

мере это обусловлено неэффективностью систем репарации ДНК и близостью к митохондриальной мембране, где генерируются АФК. Возрастные нарушения дыхания митохондрий выявлены не только в нормальных тканях, но и у лиц с нейродегенеративными заболеваниями — болезнью Альцгеймера, болезнью Паркинсона, хореей Хантингтона, при двигательных расстройствах, миопатии скелетных и сердечной мышц и др. (Troen, 2003). Эти заболевания характеризуются также высокой частотой мутаций в мтДНК. Имеются данные об ассоциации апоптоза с фрагментацией мтДНК.

Наследуемый полиморфизм мтДНК ассоциирован со старением и долголетием: гаплотип J гораздо чаще встречается у столетних мужчин северной Италии, чем у молодых (De Benedictis et al., 1999). Интересно, что этот же митохондриальный гаплотип с высокой частотой экспрессируется при многих комплексных заболеваниях, являя собой пример антагонистической плейотропии, то есть гена или генов, которые, неблагоприятным образом сказываясь в молодом возрасте, оказывают благоприятное действие в пожилом возрасте, обеспечивая благополучное старение. Картину делают еще более сложной данные о том, что частоты полиморфизмов мтДНК в популяциях пожилых людей в Италии, Ирландии и Японии существенно различаются (Ross et al., 2001).

А. Г. Трубицын (2006) полагает, что ведущей причиной старения является затухание клеточной биоэнергетики, которое непосредственно программируется ядерным геномом. По его мнению, супероксидный радикал, генерируемый респираторной цепью, нейтрализуется антиоксидантной системой в две стадии: в реакции, катализируемой СОД, он превращается в  $H_2O_2$ , которая затем глутатионпероксидазой разлагается на воду и кислород. Глутатионпероксидазная реакция шунтируется реакцией Фентона, приводя к образованию гидроксильного радикала. Запрограммированное затухание биоэнергетики митохондрий снижает активность глутатионпероксидазы, что увеличивает концентрацию в тканях перекиси водорода и усиление потока последней через реакцию Фентона. Таким образом, старение и увеличение генерации агрессивных АФК являются двумя следствиями запрограммированного затухания биоэнергетики клетки.

В. Andziak и соавт. (2006) опубликовали результаты своих наблюдений, которые можно рассматривать как один из самых сильных вызовов все больше критикуемой теории окислительного стресса. Наиболее часто в поддержку теории приводят результаты измерения продукции окислителей и/или антиоксидантной активности в тканях, полученных от животных с различной продолжительностью жизни, обусловленной генетическими или средовыми изменениями. Тем не менее более прямым подходом является прямое измерение окислительных повреждений в самих тканях. Авторы указанной работы использовали чувствительные методы анализа для измерения окислительного повреждения в тканях лабораторных мышей по сравнению с отдаленно родственными долгоживущими грызунами — голыми крото-крысами (NMR). Имея одинаковые с обычными мышами размеры тела, NMR в лабораторных условиях живут обычно более 20 лет (максимум

28.3 года). Ткани молодых взрослых (2 года) NMR сравнивались с молодыми (3 мес) и старыми (2 года) мышами. Окислительное повреждение было в обоих случаях выражено значительно больше у NMR (от 1.5 до 10 раз в зависимости от ткани и метода). Ткани NMR также имели более низкий уровень восстановленного глутатиона (так же, как сниженный уровень других антиоксидантов) и более склонное к окислению клеточное окружение. Хотя снижение окислительного повреждения в ключевых тканях может быть достаточно для увеличения продолжительности некоторых видов вроде *D. melanogaster* (Landis, Tower, 2005), результаты, полученные на NMR, показали, что это не обязательно.

Как подчеркивает S. N. Austad (2007), кажется, что никакие объемы информации не могут поколебать уверенность научного сообщества в том, что окислительный стресс — широко распространенный механизм старения, хотя могут быть приведены веские доводы об его участии в некоторых специфических нейродегенеративных заболеваниях. Можно надеяться, что новые данные об окислительном повреждении в тканях NMR вызовут пересмотр этой гипотезы. Кроме того, было показано, что мышцы с дефицитом Mn-SOD, как и предполагалось, имеют более высокий уровень окислительного повреждения в тканях, но не являются короткоживущими (VanRemmen et al., 2003), а избыточная экспрессия ключевого антиокислительного фермента CuZn-SOD не увеличивает продолжительности жизни мышей (Huang et al., 2000). Эти вызовы гипотезе окислительного повреждения не означают, что она должна быть отвергнута, но предполагают, что она должна быть пересмотрена и уточнена.

#### 2.1.4. Эволюционные теории старения. Теория расходуемой сомы

Брось свои иносказания  
И гипотезы святые!  
На проклятые вопросы  
Дай ответы нам прямые!

*Генрих Гейне*

Само существование старения представляет собой эволюционную загадку. Поскольку долгоживущие индивидуумы могут произвести больше потомства, чем короткоживущие особи, естественный отбор должен способствовать увеличению продолжительности жизни. В связи с этим возникает вопрос: почему тогда продолжительность жизни большинства видов относительно короткая (меньше 1 года) (Finch, 1990)? Существуют по крайней мере три гипотезы, в которых предприняты попытки объяснить старение с эволюционной точки зрения.

P. Medawar (1952) выдвинул теорию накопления мутаций, согласно которой после завершения репродуктивной функции организма сила естественного отбора, поддерживающего жизнеспособность, уменьшается так бы-

стро, что разрушительные мутации не могут эффективно устраняться. Накопление мутаций приводит к физическим нарушениям.

Согласно гипотезе «антагонистической плейотропии» (Williams, 1957), старение возникает потому, что естественный отбор способствует аллелям, имеющим благоприятный эффект в раннем периоде жизни, даже если они оказывают неблагоприятный эффект в пожилом возрасте. Сила отбора, способствующего таким аллелям, максимальна в период первой репродукции, после чего, собственно, старение и начинается.

Основываясь на классических представлениях А. Вейсмана (Weissmann, 1889), П. Медавара (Medawar, 1952), Г. Уильямса (Williams, 1957, 1966) о роли связанного с накоплением неблагоприятных мутаций естественного отбора в эволюции продолжительности жизни, в течение ряда лет Т. Кирквуд развивает эволюционную теорию старения, ключевым моментом которой он полагает представления о расходуемой (невозобновляемой) соме (disposable soma theory) (Kirkwood, 1997, 2002). По его мнению, эволюционные теории старения дают возможность сделать ряд предсказаний в отношении роли геномных факторов, которые могут быть вовлечены в процесс старения:

1. Маловероятно существование специфических генов старения.
2. Гены, имеющие особую важность для старения и долголетия, вероятнее всего регулируют поддержание и расходимость сомы.
3. Могут существовать другие генетически определяемые факторы перераспределения баланса ресурсов (trade-off) между преимуществами молодого организма и его жизнеспособностью в старческом возрасте.
4. Может существовать множество мутаций с отдаленными последствиями, которые вносят свой вклад в старческий фенотип.

Очевидно, что старческий фенотип определяется множеством генов и будут необходимы большие усилия для выяснения как их общего количества и категорий, так и того вклада, который действительно является существенным для старения. Эволюционная генетика старения еще не получила того признания, как она того заслуживает, однако ее значение будет возрастать (Finch, Kirkwood, 2000; Partridge, 2001). Представляют большой интерес попытки сравнительного анализа возрастных трендов экспрессии генов, контролирующих определенные физиологические функции при старении животных разных видов (нематод, плодовых мух, мышей, обезьян, человека) (табл. 2.4) (Kim, 2007).

Несмотря на то что долголетие человека в значительной мере обусловлено генетическими факторами, негенетические факторы, такие как питание и образ жизни, имеют также очень большое значение. Поэтому важно не только идентифицировать гены, с которыми связаны продолжительность жизни и долголетие человека, а также развитие ассоциированных с возрастом заболеваний, но и установить взаимоотношения между генами и факторами окружающей среды. Стил жизни и социально-экономические факторы в очень большой степени оказывают влияние на долголетие человека. В самых старших возрастах экспоненциальный характер смертности замед-

Таблица 2.4

Категории механизмов старения у животных разных видов (Kim, 2007)

Категория	Механизм старения	Сходство или различие между видами
Клеточные и молекулярные повреждения в позднем возрасте	Окислительные повреждения Соматические мутации ДНК Укорочение теломер	Имеются видовые различия
Механизмы, связанные с молодым возрастом	Антагонистическая плейотропия Клеточное старение Ограничение калорийности питания — самки, выжившие в молодом возрасте, имеют увеличенную продолжительность жизни Передача сигнала в системе инсулин—IGF-1	Большое сходство между видами
Неустраняемые последствия старения	Воспалительный ответ, вызванный инфекцией и патогенной инвазией в старческом возрасте	То же

ляется (Vaupel et al., 1998). Наиболее вероятное объяснение этого феномена состоит не в том, что замедляется само старение, а в том, что это замедление отражает гетерогенность популяции, например, более слабые (frail) индивидуумы умирают раньше по сравнению с более крепкими (robust). Тот интригующий факт, что снижение смертности и даже «эффект плато» в самых старших возрастах наблюдается не только в популяции человека, но даже в некоторых популяциях насекомых, вызывает ряд принципиальных вопросов, на которые еще предстоит найти удовлетворительные ответы (Vaupel et al., 1998; Kirkwood, 2002).

Интересна концепция биоэсхатологии, предметом которой является поиск молекулярно-генетических механизмов, определяющих, с одной стороны, процесс старения и смерти индивидуумов, а с другой — вымирание видов (Акифьев, Потапенко, 1997). Изучая особенности радиационно-индуцированного укорочения продолжительности жизни у дрозофил, авторы обнаружили, что старение протекает в скрытой форме практически в течение всей жизни взрослых мух, однако его реализация в смерть организма имеет место спустя определенный интервал времени. Кроме того, сигналом финальной фазы старения служат нарушения работы тканеспецифических генов нервных клеток. И. Ю. Попов (2008), подвергнув серьезной критике взгляды этих исследователей, полагает, что организмы стремятся воспроизвести свои копии, однако не могут воспроизводить свои абсолютно точные копии неопределенно долгое время. Поэтому вид изменяется в ходе смены поколений его представителей, даже если он уже хорошо приспособлен к окружающей среде. При этом, поскольку организмы варьируют только в определенных направлениях из-за физических и химических ограничений,

то и вид изменяется в определенных направлениях, даже если сформировавшиеся направления нерациональны и ведут к вымиранию.

Все три упомянутые выше эволюционные теории предсказывают, что скорость старения должна коррелировать со скоростью нарастания силы смертности от внутренних причин. Когда смертность низкая, индивидуумы могут доживать до преклонного возраста, а естественный отбор будет иметь достаточно времени, чтобы быть эффективным. В свою очередь этот процесс приведет к замедлению старения и увеличению продолжительности жизни, обусловленному отбором, направленным в пользу механизмов антистарения и против укорачивающих жизнь мутаций и генов со свойствами антагонистической плейотропии. Напротив, если высока смертность от внешних причин, то лишь небольшое число индивидуумов будет жить достаточно долго, чтобы системы антистарения были отобраны или мутации или гены антагонистической плейотропии были отбракованы, что приведет к ускорению старения и укорочению продолжительности жизни. Конечно, естественный отбор будет действовать на индивидуум, снижая его чувствительность к смертности от внешних причин, но поскольку «враждебные силы природы» по Дарвину часто стохастичны (например, плохая погода, отсутствие корма) или коэволюционны (хищники, конкуренты, заболевания), внешние причины смерти не могут быть полностью устранены.

Накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что старение и максимальная продолжительность жизни связаны со смертностью от внешних причин, как и предсказывается эволюционной гипотезой. Например, летучие мыши, которым способность летать позволяет легче избегать хищников, чем нелетающим млекопитающим, могут прожить в три раза дольше, чем живущие на земле животные сходного размера и уровня метаболизма (Holmes et al., 2001). Птицы также охотятся на нелетающих животных сходного размера, и в неволе птицы могут жить много дольше, чем одинакового с ними размера наземные животные, даже если у них выше скорость метаболизма (Holmes et al., 2001). Опоссумы (*Didelphis virginianis*), обитающие на островах, на которых в течение многих поколений нет хищников, живут в два раза дольше опоссумов, живущих на материке. Голые крото-крысы (*Heterocephalus glader*), социально высокоорганизованные животные, живущие в больших подземных колониях, которые хорошо защищены от хищников как прочным грунтом, так и коллективной защитой, являются исключительно долгоживущими животными (>20 лет) (Andziak et al., 2006). У социальных насекомых (муравьев, пчел, термитов) «королева», которая живет в самом безопасном и защищенном месте, может прожить в 10—100 раз дольше, чем «рабочие» особи в неволе.

Продолжительность жизни обратно коррелирует с ранним началом репродукции и ее интенсивностью у плодовых мух, гуппий и, возможно, у человека (Westendorp, Kirkwood, 1998; Larke, Crews, 2006). Предсказания эволюционных гипотез старения подкрепляются некоторыми эмпирическими наблюдениями. Механизмы, которые замедляют старение у долгоживущих, хорошо защищенных видов, можно наблюдать на клеточном уровне. Так, у

млекопитающих установлена высокая положительная корреляция между устойчивостью клеток к стрессу и максимальной продолжительностью жизни вида (Karahi et al., 1999). Уровень АФК ниже в тканях долгоживущих млекопитающих и плодовых мух, по сравнению с короткоживущими видами (Ross, 2000). Анализ зависимости между максимальными размерами тела и продолжительностью жизни 1193 видов рыб, рептилий и амфибий показал, что в каждой филогенетической группе максимальная продолжительность жизни хорошо коррелирует с размерами тела (Blanco, Sherman, 2005). Следует отметить, что живущие в химически защищенных условиях особи имели более длительную видовую продолжительность жизни, чем незащищенные виды животных. Эти данные убедительно свидетельствуют в пользу важной роли такого фактора, как защита от хищников в эволюции старения.

Рассматривая возникновение и эволюцию старения, А. Г. Бойко (2007) отмечает, что старение не является обязательным атрибутом существования многоклеточных организмов, оно характерно только для отдельных филогенетических групп. Указывается, что первые многоклеточные организмы, которые возникли на Земле, унаследовали от одноклеточных эукариот механизмы клеточного старения и программируемой клеточной смерти (апоптоз), которые практически не ограничивают длительность жизни индивидуумов. Старение и смерть от старения, по мнению автора, — это более поздние эволюционные приобретения, возникшие с появлением унитарной организации многоклеточных организмов (табл. 2.5). Бойко полагает, что старение (зависимое от возраста самоуничтожение от внутренних причин у многоклеточных) возникает на фоне первичной иммортальности. По его мнению, старение и смерть от старения не обязательный, но желательный атрибут существования многоклеточных организмов с половым размножением, так как в фазу становления вида оно облегчает процессы видообразования, тем самым ускоряя радиацию филогенетических групп. Другими словами, наличие механизма внутреннего самоуничтожения дает отделенные эволюционные преимущества — ускорение эволюционного процесса и темпа замены одних видов на другие, что создает предпосылки для эволюционного прогресса (Бойко, 2007).

Интересны и весьма спорны взгляды на природу старения, развиваемые В. А. Кордюмом (2006). Полагая, что жизнь — это форма существования информации, содержащей информацию на собственное обеспечение и существование, он подчеркивает, что жизнь как явление не борется со старением. Она существует вне его, элиминируя даже саму «зародышевую плазму» на подходах к старению, ибо все вставшее на путь подходов к старению — уже потенциально «не соответствующее». Это основополагающий принцип. Не борьба со старением (что концептуально невозможно по фундаментальным законам бытия и гарантированно обречено), а существование вне старения.

Линия «зародышевой плазмы», по мнению автора, проходит через жесточайшее сито всех видов отбора «на соответствие». Отбирается полноценный эталон за счет элиминации всех носителей информации, в которых он,

**Таблица 2.5**  
**Старение, регенерация и размножение у представителей различных видов**  
**(Бойко, 2007)**

Организмы (тип, класс, вид)	Регенерация	Старе- ние	Бесполое размножение	Примечания
Тип мезозои (Mesozoa)	?	?	+ агаметы	
Тип пластинчатые (Plasozoa)	+++	–	Путем простого деления тела	
Тип губки (Spongia)	+++	–	+	Scolymastra joubini — МПЖ — 15000 лет
Тип кишечнополостные (Coelenterata)	+++	+/-	+	Cnidaria vulgaris — потенциально бессмертное животное
Тип плоские черви (Plathelminthes)	+++	+/-	+	
Тип немуртины (Nemertini)	++	-/+	+ фрагментация тела	
<b>Тип круглые черви (Nemathelminthes)</b>				
Класс брюхопесничные черви (Gastrotrichia)	+	-/?	?	
Класс круглые черви (Nematoda)	–	++	–	Доминирующая группа
Класс коловратки (Rotifera)	–	++		
<b>Тип кольчатые черви (Annelida)</b>				
Класс многощетинковые (Polychaeta)	++	+/-	++	Виды, размножающиеся исключительно бесполом путем, как гаметы, бессмертны
Класс малощетинковые (Oligochaeta)	+++	+/-	Фрагментация тела	То же
Класс пиявки (Hirudinea)	Регенеративные способности очень слабые	+	–	
<b>Тип членистоногие (Arthropoda)</b>				
Надкласс морские пауки (Pantopoda)	++	?	–	
Класс мечехвосты (Mecrostomata)	++	?	–	Limulus polyphemus — МПЖ — 20—25 лет



Таблица 2.5 (продолжение)

Организмы (тип, класс, вид)	Регенерация	Старе- ние	Бесполое размножение	Примечания
Класс паукообразные (Arachnida)	++	Видимо, есть	–	Возможно, есть виды с пренебрежимым старением
Класс ракообразные (Crustacea)	++	–/+	В виде исключения у корнеголовых раков	Homarus americanus — вид с пренебрежимым старением
Надкласс многоножки (Myriapoda)	?	?	–	
Класс насекомые (Insecta)	–	++	Полиэмбриония у ряда видов	Доминирующая группа
Тип онихофоры (Onychophora)	?	?	–	
Тип моллюски (Mollusca)	+	+/-	–	Виды с пренебрежимым старением: Margaritifera margaritifera; Arctica islandica; ряд видов осьминогов
<b>Тип иглокожие (Echinodermata)</b>				
Класс морские звезды (Asteroidea)	+++	?	Делением тела пополам с последующей регенерацией недостающей части	
Класс офиуры, или змеехвостки (Ophiuroidea)	+++	?		
Класс морские ежи (Echinoidea)	+++	–	–	Strongylocentrotus franciscanus — МПЖ 200 лет
Класс голотурии (Holothuroidea)	+++	?	+	
Тип мшанки (Ectoprocta или Bryozoa)	+++	?	+ почкование	
Тип полухордовые (Hemichordata)				
Класс кишечнотышущие (Enteropneusta)	+++ / ++	?	Ряд видов может размножаться простым делением тела	
Класс крыложаберные (Pterobranchia)	++	?	Почкование	

Таблица 2.5 (продолжение)

Организмы (тип, класс, вид)	Регенерация	Старение	Бесполое размножение	Примечания
<b>Тип хордовые (Chordata)</b>				
Подтип головохордовые или бесчерепные (Cephalochordata)	+	?	–	
<b>Подтип личиночордовые или оболочечники (Urochordata или Tunicata)</b>				
Класс аппендикулярии (Appendicularia или Larvacea)	– Постоянство клеточного состава	+	–	
Класс асцидии (Ascidiacea)	+++	?	Почкование, геммулы	
Класс пелагические оболочечники (Thaliacea)	++	?	Наружное почкование	
<b>Подтип позвоночные или черепные (Vertebrata или Craniata)</b>				
Класс хрящевые рыбы (Chondrichthyes)	++	+/-	–	
Класс костные рыбы (Osteichthyes)	++	+/-	–	Виды с пренебрежимым старением: <i>Sebastes aleutianus</i> (205); <i>Sebastes borealis</i> (157); <i>Acipenser fulvescens</i> (152); <i>Hoplostethus atlanticus</i> (149); <i>Huso huso</i> (118); <i>Sebastes ruberrimus</i> (118); <i>Sebastes nigrocinctus</i> (116)*
Класс земноводные (Amphibia)	++	?	–	Ряд авторов относит амфибий к видам с пренебрежимым старением
Класс пресмыкающиеся (Reptilia)	++/+	+/-	–	Виды с пренебрежимым старением: <i>Geochelone gigantea</i> (152); <i>Terrapene Carolina</i> (138); <i>Testudo graeca</i> (127); <i>Emys orbicularis</i> (120)*

Таблица 2.5 (продолжение)

Организмы (тип, класс, вид)	Регенерация	Старение	Бесполое размножение	Примечания
Класс птицы (Aves)	+ Сохранена ре- паративная регенерация нервной ткани	? Установ- лен факт старения только для семейства куриных	–	Ряд исследователей по- лагает, что большин- ство видов птиц име- ет пренебрежимое старение
Класс млекопитающие (Mammalia)	+ Постмитоти- ческий мозг	+	+ На ранних стадиях эмбрио- нального разви- тия — по- лиэмбри- ония	

Примечание. МПЖ — максимальная продолжительность жизни; \* — в скобках МПЖ, годы; (+) — наличие признака; (–) — отсутствие признака.

эталон, неполноценен. И все индивидуумы для жизни как явления — не более как способ достижения такой непрерывности. Через них, только через них и только их ценой проходит непрерывно вот уже 4 миллиарда лет жизни, пребывая все это время вне старения (Кордюм, 2006). Все остальное в Биосфере, утверждает он далее, все индивидуумы и все их множества — виды — как расходный материал после выполнения задачи (или при любой попытке ее невыполнения) превращаются в не более чем «отходы производства». Формой же их элиминации, ее фенотипическим механизмом и является старение. Индивидуумы, выполнив для жизни как явления «квантовую» задачу ее существования вне старения, ей более не нужны.

### 2.1.5. Старение как медленный феноптоз

В ряде работ последних лет В. П. Скулачев (Скулачев, 1997; Skulachev, 2001, 2004) развивает концепцию феноптоза как механизма запрограммированной смерти и старения. Под феноптозом понимается процесс биохимического самоуничтожения (самоубийства) на уровне организма. На субклеточном уровне запрограммированным механизмом самоуничтожения является митоптоз, на клеточном — апоптоз, надклеточном — коллективный апоптоз, органоптоз. Утверждается, что «любая достаточно сложная биологическая система снабжена программой самоликвидации ее составных час-

тей. Такая программа реализуется, если данная составляющая оказывается вредной (а иногда просто ненужной) для системы в целом (Skulachev, Longo, 2005).

В качестве примеров феноптоза у многоклеточных организмов, размножающихся однократно, автор приводит имаго поденки, живущей чуть более суток; клеща *Adactilidium*, потомки которого выводятся внутри тельца матери и прогрызают себе путь на волю, убивая тем самым мать; некоторых кальмаров, самцы которых гибнут сразу после того, как перенесут свой сперматофор под кожу самке; самок осьминога, которые полностью теряют аппетит и гибнут с голоду после вылупления из яиц потомства; бамбук, который может жить 15—20 лет, размножаясь вегетативно, но после цветения засыхает в разгар лета тотчас после созревания семян.

Хорошо известен пример запрограммированной смерти тихоокеанского лосося (*Oncorhynchus*), который умирает с признаками ускоренного старения вскоре после того, как вымечет икру. При этом старение «включается», когда лосось покидает океан и направляется по реке к ее верховьям, где и мечет икру. За это время в организме лосося резко повышается уровень глюкозы, жирных кислот и холестерина в крови (до 25.9 ммоль/л — 1000 мг% во время нереста), повышается функция надпочечников, развивается атрофия тимуса и ожирение. Смерть наступает от множественных инфарктов миокарда, мозга, почек, легких (Wexler, 1976). Старение и смерть не наступают, если у лосося удалить надпочечники или гонады (Robertson, Wexler, 1962).

В. П. Скулачев (2001, 2005) полагает, что процесс старения у животных, включая млекопитающих, представляет собой медленный феноптоз. Биологический смысл этого феномена, возможно, заключается в его ускоряющем действии на эволюцию. В известных пределах укорочение жизни может благоприятно сказаться на темпе эволюции благодаря сопутствующему этому ускорению смене поколений. Этот механизм эволюционно выгоден в условиях ухудшения внешних условий обитания. Когда условия обитания улучшаются, темп эволюции замедляется, что проявляется снижением плодовитости и увеличением продолжительности жизни. Когда птицы и летучие млекопитающие завоевали воздушный океан, они стали существенно менее плодовитыми и живут в несколько раз дольше, чем сравнимого размера наземные млекопитающие (Holmes et al., 2001).

Биохимические механизмы реализации феноптоза у эукариот включают генерацию АФК митохондриями клетки и апоптоз, ведущий ее к гибели. Ряд данных свидетельствует о важной роли в этих процессах внутримитохондриальных АФК, которые повреждают прежде всего мтДНК, специфически участвуют в регуляторном каскаде, приводящем к старению дрожжей, нематод, плодовых мух и млекопитающих (Skulachev, 2001; Fabrizio et al., 2001, 2004). А. Trifunovic и соавт. (2004) обнаружили, что экспрессия мутантной мтДНК-полимеразы, сохранившей способность синтезировать ДНК, но утратившей способность корректировать правильность этого синтеза, приводит к значительному увеличению частоты мутаций мтДНК, осо-

бенно контролирующего синтез цитохрома *b*, появлению многих признаков старения, а также значительному укорочению продолжительности жизни. Аналогичные данные были получены другой группой исследователей на мышцах с мутацией в локусе *PolgA*<sup>D257A/D257A</sup> мтДНК полимеразы  $\gamma$  (Kujoth et al., 2005). Введением ингибитора пор внутренней мембраны митохондрий циклоспорина А удалось предотвратить мутации мтДНК у мышей, у которых модификации ДНК-полимеразы были ограничены только сердечной мышцей (Mott et al., 2004).

Выше уже отмечалось, что митохондрии птиц существенно меньше генерируют  $H_2O_2$ , чем митохондрии млекопитающих такого же веса (Barja, 2004). Подобные различия наблюдаются также между летучей мышью и землеройкой, которая живет в 17 раз меньше летучей мыши. Эти данные свидетельствуют в пользу точки зрения о том, что «реостатом», регулирующим продолжительность жизни, является скорость генерации АФК внутри митохондрий (Skulachev, Longo, 2005).

### 2.1.6. Теория маргинотомии

В 1971 г. А. М. Оловников впервые указал на существование проблемы концевой недорепликации ДНК и сформулировал ее суть в виде так называемой теории маргинотомии (Оловников, 1971). Он дал объяснение кольцевой форме генома прокариот как способу защиты генома от эффекта концевой недорепликации ДНК. В серии теоретических работ им был также предсказан факт укорочения концов хромосомной ДНК при удвоении нормальных соматических клеток, что позволило объяснить причину существования лимита клеточных удвоений, то есть лимита Хейфлика (Olovnikov, 1996). Оловников предположил, что в герминативных (половых) клетках должна экспрессироваться такая форма ДНК-полимеразы, которая ответственна за поддержание стабильной длины теломер на концах хромосом этих клеток. Гипотеза нашла свое блестящее подтверждение в 1985 г., когда предсказанная полимераза была идентифицирована как теломераза (Greider, Blackburn, 1985). Тогда же А. М. Оловниковым было предсказано, что в раковых клетках может экспрессироваться та самая ДНК-полимераза (т. е. теломераза), которая закодирована в геноме именно ради герминативных клеток, и что именно она наделяет раковые клетки потенциальным бессмертием (т. е. отсутствием у них лимита клеточных удвоений). Важным дополнением к теории маргинотомии было указание, что у некоторых объектов укорочение теломерной ДНК может компенсироваться еще одним способом, а именно добавлением готового фрагмента ДНК, приходящего к концу хромосомы извне. Было действительно показано, что в половых клетках дрозофилы теломерная ДНК, укорачивающаяся из-за недорепликации, может компенсаторно удлиняться за счет работы транспозиционного механизма, приносящего фрагмент ДНК на конец теломеры. И наконец, было высказано предположение (Оловников, 1992), что в нормальных делящихся

соматических клетках вслед за укорочением буферной теломерной ДНК наступает потеря информационно значащих последовательностей, что может вести к процессам старения клеток (теломерная теория клеточного старения).

Есть все основания полагать, что А. М. Оловникову принадлежит честь основания нового научного направления — теломерной биологии. Суть этой новой области состоит в исследовании биологических феноменов, связанных с репликативным и репаративным укорочением теломерной ДНК в нормальных и патологически измененных клетках, в изучении механизмов этого укорочения и его последствий, а также способов поддержания и регуляции стабильности концов хромосом. А. М. Оловников предсказал также существование теломеразы как фермента, компенсирующего репликативное укорочение теломер. Помимо чисто фундаментального значения, предсказания Оловникова создали предпосылку для поиска в различных лабораториях мира ингибиторов теломеразы с целью их использования в противораковой терапии.

Позднее А. М. Оловников (2000) выдвинул новую теорию регуляции функции генома («фонтанная теория»), в основе которой лежат представления о регулирующей роли ионных каналов внутренней мембраны клеточного ядра. Нарушения их функции могут приводить к накоплению повреждений в хромосомах и ряду эпигенетических эффектов, таких как положение гена и трансекция, что может иметь значение в старении организма. Автор полагает, что по своему первичному механизму биологическое старение есть «болезнь количественных признаков», на течение которой влияет характер ионной модуляции транскрипционной продуктивности генов. При укорочении теломер в стареющих клетках зависимые от так называемых фонтанных РНК ионные каналы могут становиться недоступными для субтеломерных генов, что может количественно менять продуктивность соответствующих генов и быть фактором клеточного старения.

### 2.1.7. Редусомная теория старения

Я мыслю о немислимом — о том,  
Чего, быть может, никогда не будет...

*Игорь Северянин*

В 2003 г. А. М. Оловниковым (Оловников, 2003) была предложена оригинальная редусомная гипотеза старения и контроля за ходом биологического времени в индивидуальном развитии. Предполагается существование в клетках редусом — перихромосомных частиц, возникающих при дифференцировках в ходе морфогенетического развития организма. Покрытая белками линейная молекула ДНК редусомы — это копия сегмента хромосомной ДНК. Редусомы расположены преимущественно в субтеломерных регионах хромосом. Редусома не покидает тело своей хромосомы даже при

клеточных делениях, удерживаясь в своем хромосомном гнезде. Подобно теломерной ДНК, линейная ДНК редусомы с течением времени укорачивается. Поэтому крошечные редусомы прогрессирующе уменьшаются в размерах; отсюда и их название. Вместе с убылью ДНК в редусоме уменьшается и количество содержащихся в ней разных генов. Укорочение молекул редусомной ДНК (и вызванное этим изменение набора генов в редусомах) изменяет с возрастом уровень экспрессии различных хромосомных генов и благодаря этому служит ключевым средством измерения биологического времени в индивидуальном развитии. Основная часть ДНК большинства редусом представлена некодирующими генами, с которых транскрибируются так называемые микроРНК и фонтанные РНК (фРНК), вовлеченные в регуляцию различных переупаковок хроматина, специфичных для определенных дифференцировок, и в модуляцию уровней экспрессии хромосомных генов. Фонтанные РНК (фРНК) способны количественно менять уровень экспрессии генов в хромосомах. Эти фРНК образуют специфические комплексы с фионами. Фионы — это сайты хромосомной ДНК, комплементарные разным фРНК. Фионы находятся в окрестностях обычных хромосомных генов. Комплекс фРНК — фион при его специфическом взаимодействии с закрытыми воротами соответствующего ионного канала внутренней ядерной мембраны инициирует на очень короткий срок перевод канала в открытое состояние. Этим организуется работа ионного фонтана, который оказывается автоматически нацеленным на ближайший к данному фиону хромосомный ген. В зависимости от специфичности вовлеченных в процесс фРНК фионов и ионных каналов, фонтаны своими ионами создают неидентичное ионное окружение вблизи разных структурных генов. Топографически специфичное воздействие ионных фонтанов влияет на конфигурацию соответствующих сегментов хроматина и на транскрипционную продуктивность хромосомных генов. Поэтому фонтанная система ядра способна управлять количественными признаками клеток и организма; она может контролировать доминантность аллелей и играть роль в индивидуальном развитии. Прогрессирующее укорочение ДНК редусом приводит к клеточному старению из-за постоянно возрастающей нехватки молекул низкомолекулярных РНК, транскрибируемых с редусомных генов.

Редусомы подразделяются на два типа: хроносомы и принтосомы. Линейные молекулы ДНК в двух типах редусом именуются соответственно хрономеры и принтомеры. Хроносомы отвечают за измерение биологического времени в неделящихся клетках ЦНС. Принтосомы запоминают позиции клеток при интерпретации позиционной информации в морфогенезе и в соответствии с позицией клетки в морфогенетическом поле изменяют ее свойства и запоминают сделанное изменение (это принтомерный механизм интерпретации позиционной информации). Кроме того, принтомеры участвуют в поддержании состояния клеточной дифференцировки.

Хрономера укорачивается в норме только на пике инфрадианного гормонального ритма (Т-ритма), который инициирует акт ее сверхскоростной транскрипции, завершающийся усечением конца хрономеры (эффekt так

называемого скраптинга). Принтомера может укорачиваться за счет эффекта концевой недорепликации ДНК и из-за скраптинга. Эффект концевой недорепликации ДНК в удваивающихся клетках проявляется одновременно в укорочении как принтомер, так и теломер. Укорочение теломер — это лишь свидетель процесса старения клеток, тогда как истинной причиной биологического старения является только укорочение ДНК редусом. Процессинг определенных редусом в терминально дифференцирующихся клетках есть причина прекращения их делений. Сцепление генов в эукариотической хромосоме детерминируется дистанциями между генами и редусомами.

Конечно, редусомная теория А. М. Оловникова, несмотря на ее умозрительный характер, если даже и не подтвердится в целом, побуждает заняться поиском удивительного и красивого мира, с которым нас познакомил автор. Сколько придется нам ждать подтверждения (хочется надеяться) новой гипотезы? На какие еще вопросы мы хотели бы получить ответы у ее автора? Какие новые проблемы возникнут в медицине? И что, собственно, может сделать научное сообщество для ускорения ее проверки, чтобы избежать еще четверти века ожидания, которые прошли с момента первой публикации гипотезы маргинотомии в 1971 г. до ее подтверждения в конце XX века? За это время наши теломеры изрядно укоротились, а как мы теперь знаем, укорачиваются и редусомы, что еще существеннее. А подтвердится гипотеза или нет — покажет время астрономическое, которое, как мы уже знаем, идет независимо от биологического. Если же подтвердится, у нас будет ключ к управлению временем биологическим (Анисимов, 2003).

На основе редусомной теории старения А. М. Оловников предложил новую гипотезу происхождения болезни Альцгеймера (Olovnikov, 2007). По его мнению, первопричина старческого слабоумия может лежать вовсе не в дефектах клеток, которыми человек помнит и мыслит, а там, где создается полноценность их жизнеобеспечения. Преждевременный локальный дисбаланс в нейротрофике и гормонах может провоцировать тот интеллектуальный коллапс, который называют деменцией. Согласно гипотезе, первичное нарушение заключается в соматической (чаще) или наследственной (много реже) делеции какой-либо из хрономер. Хрономеры — это ранее постулированные перихромосомные короткие молекулы ДНК, которые создаются по хромосомным оригиналам в клетках гипоталамуса в ходе их дифференцировки и служат затем основой работы часов мозга, отмеряющих возраст развивающегося организма. Эти часы — пожизненные, именно они подсказывают организму, когда ему пора приступать к половому созреванию, когда настало время осуществлять менопаузу и т. п. Хрономерная делеция приводит к преждевременному отказу в работе этих часов, которые хотя и тикают, но показывают организму неверное время. Например, в возрасте, когда еще вполне можно занимать самые высокие посты, одна из хрономер, а именно та, что подверглась частичной делеции, начинает предательски нарушать нормальную работу мозга своего босса (Olovnikov, 2007).



### 2.1.8. Нейроэндокринологическая (элевационная) теория старения и формирования возрастной патологии

Природа — сфинкс. И тем она верней  
Своим искусом губит человека,  
Что, может статься, никогда от века  
Загадки нет и не было у ней.

*Федор Тютчев*

К самым ярким и глубоко разработанным концепциям в геронтологии по праву следует отнести элевационную теорию старения и формирования возрастной патологии у высших организмов, придающую ключевое значение в этих процессах возрастному повышению порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим сигналам (Дильман, 1987; Dilman, 1971, 1994) (рис. 2.3).

На основании изучения возрастной динамики у женщин таких показателей, как состояние репродуктивной функции, наличие приливов, избыток веса тела и уровень холестерина, В. М. Дильман еще в начале 50-х годов XX века выдвинул и обосновал идею о существовании единого регуляторного механизма, определяющего закономерности возникновения и развития в организме в процессе его онтогенеза различных гомеостатических систем. Таким механизмом, по его определению, является возрастное повышение порога чувствительности гипоталамуса к регуляторным гомеостатическим сигналам. На протяжении 60—80-х годов в серии экспериментальных исследований и клинических наблюдений было установлено, что именно этот процесс приводит к возрастному включению и выключению функции репродуктивной системы в женском организме, к возрастным изменениям в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе, обеспечивающей тонический уровень глюкокортикоидных гормонов в крови, их циркадный ритм и повышение секреции при стрессе и, как следствие, развитию состояния, обозначенному как «гиперадаптоз». Следствием аналогичных возрастных изменений в системе метаболического гомеостата, регулирующего аппетит и энергетическое обеспечение функций организма, является нарастание с возрастом содержания жира в теле, снижение чувствительности тканей к инсулину (предиабет) и развитие атеросклероза.

Важным этапом в развитии элевационной теории было установление роли возрастных изменений, закономерно возникающих в трех основных супергомеостатах (репродуктивном, адаптационном и метаболическом), в формировании таких имеющих ключевое значение для продолжительности жизни индивидуума феноменов, как метаболическая иммунодепрессия и канкрофилия, т. е. формирование условий, способствующих возникновению злокачественных новообразований (Дильман, 1987). Развивая и углубляя на протяжении почти 40 лет свою концепцию, В. М. Дильман пришел к убеждению, что старение и главные болезни, связанные со старением, не запрограммированы, а являются побочным продуктом реализации генетической программы развития, и поэтому старение возникает с закономер-



Рис. 2.3. В. М. Дильман (1925—1994).

ностью, свойственной генетической программе (Дильман, 1987; Dilman, 1994). Выдвинутая им онтогенетическая модель развития возрастной патологии открыла новые подходы к профилактике преждевременного старения и болезней, связанных с возрастом и являющихся основными причинами смерти человека (как писал В. М. Дильман — «главных» болезней): болезней сердца, злокачественных новообразований, цереброваскулярной патологии, метаболической иммунодепрессии, атеросклероза, сахарного диабета пожилых и ожирения, психической депрессии, аутоиммунных заболеваний, гипердаптоза и некоторых других. Из онтогенетической модели возникновения болезней следует, что их развитие можно затормозить, если стабилизировать состояние гомеостаза на уровне, достигаемом к окончанию развития организма. Если замедлить скорость старения, то, как полагал В. М. Дильман, возможно увеличить видовые пределы жизни человека.

Прошло почти 40 лет со времени выхода статьи В. М. Дильмана в журнале *Lancet* (Dilman, 1971), в которой он впервые сформулировал основные положения своей элевационной теории. Как сегодня можно оценить вклад ученого в развитие современных представлений о механизмах старения? Рассмотрим этот вопрос на трех примерах.

В настоящее время не возникает сомнений в ведущей роли гипоталамуса в механизме включения репродуктивной функции, однако в отношении «выключения» репродуктивной функции единого мнения не существует. Вместе с тем накоплено достаточно данных, подтверждающих выдвинутую В. М. Дильманом гипотезу о первичности изменений гипоталамической регуляции репродуктивной функции в механизме ее выключения. Так, были подтверждены данные о постепенном увеличении с возрастом уровня гонадотропинов в крови у женщин (Ebbiary et al., 1994). Основную причину этого увеличения В. М. Дильман усматривал в постепенном повышении порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическому торможению половыми гормонами. Вот что пишет известный немецкий исследователь W. G. Rossmannith (2001, p. 23): «Возрастная динамика секреции гонадотропинов у постменопаузальных женщин подтверждает эти изменения как функцию старения. Как результат, первичные изменения в гипоталамусе скорее, чем в гипофизе, определяют старение у женщин. Более того, старение может также нарушать чувствительность (гипоталамуса) к действию половых гормонов яичников по механизму отрицательной обратной связи, причем нарушения в регуляции центральных нейромедиаторов параллельны этому». Именно так формулировался В. М. Дильманом механизм возрастного выключения репродуктивной функции, что подкреплялось результатами клинических и экспериментальных исследований, выполненных в его лаборатории (Dilman, Anisimov, 1979). P. M. Wise и соавт. (2002) пишут, что ими установлено, что у крыс среднего возраста снижается чувствительность к эстрадиолу гипоталамических структур, ответственных за овуляторный выброс гонадотропин-высвобождающего гормона, что лежит в основе выключения репродуктивной функции. К сожалению, упоминания о значительно более ранних приоритетных работах В. М. Дильмана и его сотрудников в этих двух обширных обзорах нет.

Исходя из представлений о едином элевационном механизме старения, В. М. Дильман рассматривал и роль возрастных нарушений в метаболическом гомеостазе в развитии ожирения, пре-предиабета и атеросклероза. Неизбежное возрастное увеличение веса тела и содержания в нем жира он считал следствием генетически запрограммированного повышения порога чувствительности гипоталамического центра насыщения к «глюкозному и инсулиновому сигналам», причем ведущее значение в развитии метаболических нарушений придавалось инсулину (Dilman et al., 1979). В регуляции системы энергетического гомеостаза наряду с инсулином ключевую роль играют, по мнению В. М. Дильмана, также гормон роста, глюкоза и жирные кислоты. По данным, полученным в лаборатории В. М. Дильмана Ю. Ф. Бобровым, уже в среднем возрасте у людей наблюдается снижение

чувствительности системы «гипоталамус—гормон роста» к ингибированию глюкозой, что, как считалось, приводило затем к снижению чувствительности к инсулину, увеличению уровня жирных кислот. Это в свою очередь приводило с возрастом к снижению в крови уровня гормона роста. Все эти изменения, как полагал В. М. Дильман, лежат в основе развития предиабета, ожирения и условий, способствующих развитию атеросклероза.

В 2000 г. в журнале *Free Radical Biology & Medicine* в рубрике «Гипотезы» опубликована статья F. S. Facchini и соавт. (2000), в которой постулируется, что гиперинсулинемия может способствовать окислительному стрессу и тем самым независимо от гипергликемии ускорять старение и формирование ассоциированных с возрастом заболеваний, таких как сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь и рак. Гиперинсулинемия развивается вторично в связи с нарушенной способностью инсулина стимулировать метаболизм глюкозы в скелетных мышцах (резистентность к инсулину). Другой способствующий старению эффект инсулина состоит в стимуляции полиненасыщенных жирных кислот и угнетению протеосома. Авторы полагают, что данные о существенном увеличении продолжительности жизни *C. elegans* с мутациями, тормозящими передачу сигнала инсулина (Kimura et al., 1997), или увеличении продолжительности жизни при ограничении калорийности питания, снижающем уровень глюкозы и инсулина в крови (Lane et al., 1995) и окислительный стресс (Xu, Badr, 1999), могут служить подтверждением их гипотезы. Аналогичным образом Matsumoto и соавт. (2000) связывают гипоталамические нарушения и гиперинсулинемию с ускоренным старением и нарушением регуляции репродуктивной функции, энергии и веса тела.

Было установлено, что у лиц в возрасте 100 лет и более существенно реже наблюдается резистентность к инсулину и чаще сохранена функция  $\beta$ -клеток инсулярного аппарата, чем в более молодых возрастных группах (Paolisso et al., 2001). В ряде недавних работ резистентность к инсулину и гиперинсулинемия рассматриваются как новые важные факторы в развитии рака (Colangelo et al., 2002; Gupta et al., 2002). Причем указывается, что разработка лекарственных средств, восстанавливающих чувствительность к инсулину и, соответственно, снижающих уровень инсулина, может стать наиболее приоритетным направлением в профилактике рака (Gupta et al., 2002). Использование миметиков калорийно ограниченной диеты, повышающих чувствительность к инсулину и снижающих уровень глюкозы в организме, рассматривается как перспективное направление в современной геронтологии (Ingram et al., 2006).

Отметим, что еще в 80-годы прошлого века с помощью некоторых фармакологических средств, в частности антидиабетических бигуанидов (фенформин, буформин), которые повышают чувствительность тканей к инсулину, улучшают толерантность к углеводам, снижают уровень липидов и устраняют явления метаболической иммунодепрессии, также удается увеличить продолжительность жизни мышей и крыс и снизить у них частоту развития спонтанных и индуцированных химическими канцерогенами или

ионизирующей радиацией новообразований (Dilman, Anisimov, 1980; Anisimov, 2006) (подробнее см. главы 7 и 15).

В адаптационной системе уменьшение порога чувствительности гипоталамуса к торможению глюкокортикоидами наблюдается не только при старении, но и при ускоренном развитии ряда ассоциированных с возрастом заболеваний, включая снижение познавательной функции с возрастом (Dilman, 1994; Lupien et al., 1998). Было установлено, что определенную роль в этом процессе играет снижение числа и эффективности рецепторов к глюкокортикоидам в гиппокампе и дисрегуляция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (Hatzinger et al., 1996). В опытах *in vitro* удалось показать непосредственное снижение чувствительности кортикостероидов к глюкокортикоидам у крыс еще в зрелом возрасте (Revskey, Redei, 2000). Установлено, что одним из начальных звеньев в цепи нарушений в организме под влиянием генотоксического стресса является повышенная экспрессия онкосупрессорного и антиапоптотического гена bcl-2, что приводит к снижению способности дексаметазона подавлять экспрессию проопиомеланокортина и секрецию АКТГ кортикотрофами гипофиза (Ревской, 2001).

Новые доказательства в пользу выдвинутых В. М. Дильманом представлений о роли возрастного накопления холестерина в мембранах иммунокомпетентных клеток в механизмах метаболической иммунодепрессии и ее роли в старении и формировании возрастной патологии будут рассмотрены ниже (см. главы 7 и 9).

Таким образом, очевидно, что гипотеза В. М. Дильмана о том, что возникновение основных патологий в организме с возрастом является результатом общей программы развития, захватывающей одновременно все основные системы организма, несмотря на практически полное отсутствие ссылок на нее в современной западной литературе, получает все большее подтверждение. Как отметил М. Д. Голубовский (2000), 20—25 лет — «нормальный» срок для признания открытий, опередивших свое время.

## 2.2. МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ СТАРЕНИЯ И СМЕРТНОСТИ

Открылось мне: в законах точных чисел,  
В бунтующей, мыслительной стихии —  
Не я, не я — благие иерархии  
Высокий свой запечатлели смысл.

Андрей Белый

В наиболее полных обзорах проблемы математического моделирования в геронтологии (Новосельцев и др., 2003, 2004; Геронтология *in silico*..., 2007; Яшин и др., 2007) подчеркивается, что в настоящее время создаются и применяются математические модели двух основных типов. Один тип математических моделей — «модели данных», другой — «модели систем». Для

биомедицинских объектов определение этих типов было дано американскими журналами «American Journal of Physiology» и «Journal of Applied Physiology», создавшими еще в 1984 г. объединенный Форум методологии моделирования и давшими единую классификацию моделей для всех специализированных журналов Американского физиологического общества. Согласно этим определениям, модели данных — это модели, которые не требуют, не используют и не отображают каких-либо гипотез о физических процессах (системах), в которых эти данные получены. К моделям данных (аналитическим моделям) относятся, в частности, и все модели математической статистики. Модели систем строятся в основном на базе физических законов и гипотез о том, как система структурирована, и, возможно, о том, как она функционирует. В последнее время для моделей систем в англоязычной литературе иногда используют термин «mechanistic», имея в виду описание механизмов функционирования биологических систем.

#### **Математические модели старения и смертности**

##### **Структурные модели старения — модели данных**

Модель Гомперца (Gompertz, 1825).

Модель Стрелера—Милдвана (Strehler, Mildwan, 1960).

Модель Брауна—Форбса (Brown and Forbes, 1974).

Модель «лавинообразного разрушения» организма при старении (Гаврилов, Гаврилова, 1991).

Модель «резервированных систем» (Гаврилов, Гаврилова, 1991).

«Щепочная» модель Пенны (Penna, 1995).

Механистическая модель Плетчера—Нойхаузера (Pletcher, Neuhauser, 2000).

##### **Модели баланса ресурсов — модели системы**

Графическая модель баланса ресурсов (Reznik, 1985).

Модель Партридж—Бэртон (Partridge, Barton, 1993).

Модель Дасгупты—Штауффера (Dasgupta, 1994; Stauffer, 1994).

Генетическая модель Орра (Orr, 1999).

Хаотическая модель геной регуляции (Соловьев, 1991).

Гомеостатическая модель старения (Новосельцев и др., 2000, 2000а).

Исторически сложилось так, что модели данных смертности оказались наиболее развиты в смысле использования формальных, математических методов. Причина этого в практическом интересе к предсказанию, прогнозу предстоящей продолжительности жизни, шансов дожития при тех или иных обстоятельствах без выяснения механизмов, лежащих в основе биологического процесса. Такова ситуация в страховании и в меньшей мере в демографии. Именно для решения задач расчета страховых премий еще в позапрошлом веке были разработаны первые таблицы смертности и сформулированы знаменитые до сих пор модели Гомперца и Гомперца—Мэйкхема (Gompertz, 1825; Makeham, 1860). Введя простую двухпараметрическую модель смертности, Гомперц дал исследователям возможность не только предсказывать будущие шансы дожития, но, что представляется наиболее существенным, рассуждать в терминах двух фундаментальных процессов:

начальной смертности и темпа старения. Выделив таким образом из сложного процесса потери организмом жизнеспособности возрастную компоненту, Гомперц положил начало исследованиям, которые сейчас можно назвать математической демографией, граничащей с математической геронтологией. Это пример того, как модель данных может дать импульс к развитию новых направлений в предметной области и совершить эволюцию в модель системы.

Разработка моделей таблиц смертности в демографии привела к возникновению новых подходов к анализу данных смертности и дожития. Распространение демографических методов на изучение здоровья людей, инвалидизации привели к возникновению методов анализа многомерных таблиц смертности (Rogers et al., 1989), методу анализа гетерогенных популяций (Keyfitz, Littman, 1979). Высокая степень формализации проблемы позволила привлечь методы стохастического анализа и случайных процессов для описания и оценки различных компонент заболеваемости и смертности (Vaprel, Yashin, 1985; Michalski, Yashin, 1992). Различные аспекты построения моделей для исследования процессов дожития и смерти изложены в ряде фундаментальных работ (Михальский и др., 1989; Yashin, Manton, 1997; Михальский, 2002; Геронтология *in silico...*, 2007). Как и в случае модели Гомперца, эти модели позволяют проводить количественный анализ процессов, происходящих в организме и в популяции, давая стимул к развитию биологии, медицины и геронтологии и в свою очередь эволюционируя в модели систем.

А. Т. Терехин (Teriokhin, 1998) предложил подход, в котором модели систем являются развитием моделей данных, поскольку цель последних — функциональный анализ явления, а первых — анализ его механизмов. Третьим звеном этого процесса он полагает оптимизационные модели, целью которых является анализ генезиса самого механизма.

В современной литературе достаточно большое число работ посвящено анализу моделей смертности, среди которых наибольшую известность, наряду с моделью Гомперца, получили модели Стрелера—Милдвана, Сейчера—Трукко, связывающие смертность и возраст (Стрелер, 1966; Гаврилов, Гаврилова, 1991; Riggs, 1993; Голубев, 1997; Khalyavkin, 2001; Kowald, 2001). Закон экспоненциального увеличения смертности с возрастом, сформулированный в 1825 г. Б. Гомперцем и в общей форме записываемый как

$$R = R_0(\exp \alpha t),$$

в популяциях человека наиболее точно соблюдается в возрастном интервале 30—60 лет. Введение в уравнение параметра  $A$ , отражающего не зависящую от возраста смертность (поправка Мейкхема), по мере снижения воздействия факторов окружающей среды на смертность популяции не изменяет существенно характера экспоненциальной зависимости смертности от возраста (Гаврилов, Гаврилова, 1991).

Указывают, что возрастное снижение функциональных возможностей организма носит характер, близкий к линейному (Стрелер, 1966), что диктует необходимость увязки такой динамики с экспоненциальным возрастанием удельной возрастной смертности. Один из подходов к решению этой проблемы заключается в привлечении теории надежности (Гаврилов, Гаврилова, 1991). Другой подход основан на предположении, что возрастная динамика смертности должна объясняться как свойствами самих систем, так и внешними и внутренними условиями их существования. В модели Сэйчера—Трукко постулируется Гауссовское распределение числа живых систем по силе воздействия, которому они в каждый данный момент подвергаются со стороны условий их существования. При некоторых дополнительных предположениях вероятность выхода системы за пределы флюктуаций, позволяющих ей оставаться живой, повышается по мере возраста системы экспоненциально.

Согласно модели Стрелера—Милдвана, по мере увеличения величины флюктуаций, претерпеваемых живой системой вследствие действия на нее внешних сил, вероятность таких флюктуаций снижается по экспоненте (Стрелер, 1966). Величина флюктуации определяется как работа, которую система должна выполнить, чтобы флюктуация не вывела ее за пределы, в которых система остается живой. В случае линейного снижения с возрастом максимальной способности систем к выполнению такой работы имеет место экспоненциальный характер увеличения удельной смертности по мере увеличения возраста. Форма этой зависимости содержится в основном постулате теории, эвристическим основанием для которого явилась аналогия с распределением частиц по кинетической энергии, описываемым законом Больцмана—Максвелла: чем больше энергия, тем меньше вероятность того, что частица в результате случайных воздействий сможет ее набрать (Голубев, 1997).

В старших возрастах функциональные возможности организма оказываются близкими к исчерпанию и не снижаются потому, что уже больше нечему снижаться. Соответственно прекращается увеличение удельной возрастной смертности, которая остается на прежнем высоком уровне, но тем не менее остаток поколения исчерпывается не так скоро, как можно ожидать на основании экстраполяции из более ранних возрастов. Эффект замедления нарастания возрастной смертности в популяциях очень старых организмов был отмечен как при проведении экспериментов на насекомых, так и при исследовании долгожителей у людей и вызвал чрезвычайный интерес (Mueller, Rose, 1996). Описываемая модель объединяет теории эволюции старения, базирующиеся на представлениях Медавара—Уильямса (Williams, 1957), теорию смертности Стрелера—Милдвана (Стрелер, 1966), стохастические теории механизма старения (Голубев, 1997), частными вариантами которых является свободнорадикальная теория и теория накопления соматических мутаций, и теорию «интенсивности жизни» (Стрелер, 1966), которая входит в объяснение компенсационного эффекта. За рамками модели остаются теории запрограммированного старения и теории, основанные



на существовании лимита Хейфлика и укорочения теломерных участков хромосом в процессах клеточной пролиферации. Это не значит, что тем самым отвергаются факты существования лимита Хейфлика, укорочения теломер и найденные корреляции. Но одного того факта, что старение с характерной для него возрастной динамикой смертности наблюдается и у организмов, у которых во взрослом состоянии клеточная пролиферация отсутствует (круглые черви, дрозофилы, другие насекомые), достаточно, чтобы не считать феномены, связанные с клеточной пролиферацией, лежащими в основе старения (Голубев, 1997).

А. Г. Голубевым (1997) модифицирована предложенная Стрелером и Милдваном модель экспоненциальной зависимости удельной смертности, что позволило объяснить компенсационный эффект смертности как проявление молекулярных механизмов старения на популяционном уровне. Предполагается, что превышение скорости нарастания смертности от какой-то одной причины над остальными приводит к более быстрому исчерпанию поколений популяции, при этом отпадает необходимость поддерживать скорости снижения других функциональных возможностей на прежнем уровне. Излишний запас надежности элиминируется отбором, поскольку обеспечивающие его системы конкурируют с другими за ресурсы организма. В результате этого скорости снижения функциональных возможностей (в среднем по поколению) синхронизируются, что находит свое выражение в примерной параллельности кривых, описывающих зависимости смертности от возраста для основных зависимых от возраста причин смерти по отдельности: сердечно-сосудистых заболеваний, злокачественных новообразований и несчастных случаев. Как следует из предложенной модели, в возрасте, близком к абсциссе точки пересечения кривых смертности, функциональные возможности организма оказываются близкими к исчерпанию и соответственно прекращается увеличение удельной возрастной смертности, которая остается на достигнутом высоком уровне (Голубев, 1997).

Теоретические аспекты взаимоотношений между организмом и окружающей средой, в частности их влияние на кинетику старения популяций, оригинально развиваются А. В. Халявкиным (Халявкин, 1998; Khalyavkin, 2001). Он полагает, что в условиях неадекватной внешней среды старению подвержены даже примитивные нестареющие организмы. Эта же простая причина может лежать в основе старения и более сложных организмов, для жизненных циклов которых характерны повторные репродукции. Подчеркивается, что, во-первых, соматические стволовые клетки проявляют свойства потенциально нестареющих самоподдерживающихся систем. Во-вторых, корреляция Стрелера—Милдвана между параметрами статистики смертности людей, живущих в разных странах (условиях), совпадает с картиной смертности, ожидаемой в гипотетических популяциях потенциально нестареющих особей, которые тем не менее должны испытывать старение из-за функционирования в условиях, в разной степени препятствующих полному самоподдержанию организма. Утверждается, что в естественной среде обитания качество функционирования гомеостатических физиологи-

ческих систем должно быть значительно лучше, чем в лабораторных условиях, а возрастное сужение границ возможных отклонений от возрастной же нормы (сопротивляемости стрессовым воздействиям) должно проявляться в гораздо меньшей степени. Следовательно, заключают авторы, темп старения организма в таких условиях может быть значительно ниже, чем в дезадаптирующих комфортных условиях (Халявкин, Яшин, 2004).

В определенной мере этим взглядам соответствует точка зрения А. В. Макрушина (2001), заметившего, что не старение делящихся клеток является причиной смерти от старости, поскольку она наступает до исчерпания репликативного лимита. Рассматривая процессы старения у беспозвоночных, автор указывает, что у находящихся близко к основанию филогенетического дерева Metazoa разрушение жизненно важных органов является составной частью нормального онтогенеза. Оно сопровождается приспособлением к ухудшению среды обитания и бесполое размножение. В ходе эволюции обратимость этих деструктивных процессов была утрачена, а значение их изменилось. Одни из них, а именно инволюция, стали вызывать смерть от старости.

В работах А. И. Яшина и его сотрудников (Vaupel, Yashin, 1985; Yashin et al., 2002; Яшин, Украинцева, 2004) отмечается, что традиционные демографические методы анализа заболеваемости и смертности в целях упрощения расчетов не принимают во внимание два важных свойства, определяющих связь любой популяции с внешней средой. Это различия в шансах заболеть и умереть среди индивидуумов, составляющих популяцию (уязвимость), и наличие зависимости между такими биологическими характеристиками, как продолжительность жизни, возраст начала заболевания и т. д. у генетических родственников и индивидуумов, имеющих общие культурные и другие жизненные стандарты. В этих работах рассмотрены и описаны способы учета скрытой неоднородности и зависимости между соответствующими рисками в моделях популяционных характеристик.

Для учета скрытых различий в шансах гибели рекомендуются модели с постоянной (Vaupel, Yashin, 1985) и переменной (Yashin, Manton, 1997) уязвимостью. Суть моделей с постоянной уязвимостью сводится к введению случайной неотрицательной величины  $Z$ , называемой уязвимостью, подчиняющейся определенному закону распределения (например, гамма- или лог-нормальному), и выбору параметрического представления для «базового» риска  $\mu_0(x)$  как функции возраста  $x$  (Яшин, Украинцева, 2004). При этом риск  $\mu(x, Z)$  для отдельного индивидуума, характеризующегося уязвимостью  $Z$ , описывается как произведение:

$$\mu(x, Z) = Z \mu_0(x).$$

Указывается, что наличие скрытой неоднородности приводит к смещению регрессионных оценок Кокса от их истинных значений. Использование теории зависимых рисков позволяет избежать параметрического описания базового риска  $\mu_0(x)$  при анализе мультивариантных данных о смертности

среди зависимых индивидуумов. В моделях переменной уязвимости удается учесть изменение характеристик неоднородности с возрастом.

В стохастических моделях переменной уязвимости предполагается, что показатели, например, характеризующие физиологическое состояние организма, определяемые как факторы неоднородности  $Y_x$  и влияющие на риск  $\mu(x, Y_x)$  гибели индивидуума, изменяются с возрастом случайным образом. При этом наблюдаемый риск является результатом условного усреднения индивидуальных рисков среди тех, кто дожил до возраста  $x$  (Яшин, Украинцева, 2004). Это наблюдение важно для интерпретации результатов анализа и свидетельствует о том, что средние по когорте возрастные траектории не являются «средними биологическими» траекториями. В них присутствует смещение, обусловленное выбытием из состава популяции наиболее уязвимых индивидуумов. При решении задачи оптимального управления параметрами энергопродуктивности организмов получены математически корректные обоснования возможного происхождения природной неоднородности (гетерогенности) популяций (Бутов, Волков, 2004).

Для изучения зависимости между продолжительностью жизни у родственников, когда зависимость между индивидуумами опосредована генетическими и средовыми факторами, наиболее адекватными могут быть модели коррелированной уязвимости (Яшин, Украинцева, 2004).

Несмотря на традиционно существующий известный скептицизм в экспериментальной биологии старения в отношении математических моделей, есть все основания полагать, что математическое моделирование может и должно стать рутинным и удобным для биологов средством формулирования биологически обоснованных и математически корректных гипотез относительно различных аспектов старения и их экспериментальной проверки (Яшин и др., 2007). Об этом свидетельствует устойчивая тенденция современных экспериментальных исследований. Наиболее известные экспериментальные группы во всем мире предпочитают устанавливать прямые и постоянные контакты с командами математиков. Самым ярким примером мирового масштаба в этой области является деятельность А. Я. Яшина, в 1996 г. вместе с J. W. Vaupel и рядом других ученых основавшим Институт демографических исследований общества им. Макса Планка в г. Росток (Германия) и работавшего там до 2005 г. (в настоящее время — работает в Университете Дюка, г. Дурем, Северная Каролина, США). Яшину удалось привлечь к работе по созданию математических моделей в биогеронтологии и демографии ряд ведущих российских математиков (В. Н. Новосельцев, Ж. А. Новосельцева, А. И. Михальский, Институт проблем управления РАН, Москва; А. А. Романюха, Институт вычислительной математики РАН, Москва; А. А. Бутов, Ульяновский государственный университета, и др.). Исследования, выполняемые этим коллективом в творческом содружестве с биологами и медиками из США, Германии, Дании, Италии, России и других стран, являются эталоном в мировой геронтологии.

Согласно точке зрения Плетчера и Нойхаузера (Pletcher, Neuhauser, 2000), для оценки адекватности моделей могут быть использованы «ключе-

вые эксперименты», совокупность которых должна отражать следующие основные результаты:

- снижение индивидуальной и популяционной смертности в старших возрастах;
- «смещение вправо» траекторий смертности при целенаправленном отборе из популяции долгоживущих особей;
- большое генетическое разнообразие в смертности в ранних возрастах по сравнению со старшими;
- преобладание отрицательных корреляций между смертностью в начале жизни и темпом увеличения смертности с возрастом (корреляция Стрелера—Милдвана);
- наличие изменений возрастной смертности, вызываемых изменениями окружающей среды.

Соглашаясь с этими авторами в том, что вопросы адекватности моделей их биологическим прототипам до сих пор во многом неясны и требуют обсуждения, В. Н. Новосельцев и соавт. (2001) не сомневаются в том, что вся совокупность математических моделей старения должна описывать всю область «ключевых экспериментов» биogerонтологии, однако подчеркивают «завышенность» требования о соответствии каждой модели всем «ключевым результатам». Отмечается, что гомеостатическая парадигма математического моделирования допускает принципиально важное изменение паттернов окислительных повреждений и антиоксидантной защиты как с возрастом, так и под воздействием условий среды.

В качестве примеров успешного применения методов математического имитационного моделирования в геронтологии можно привести работы, посвященные моделированию возрастных изменений в иммунной системе (Романюха, Яшин, 2001) и математической имитационной модели ускоренного старения, индуцируемого 5-бромодезоксиуридином (Butov et al., 2002), которые будут обсуждаться ниже (см. главы 9 и 13 соответственно). В экспериментах с *C. elegans*, которых подвергали тепловому стрессу в различных дозах, был выявлен отчетливый эффект гормезиса при кратковременном нагревании и неблагоприятное воздействие длительного нагревания на продолжительность жизни нематод (Michalski et al., 2001; Yashin et al., 2001). Важно подчеркнуть, что применение математического анализа и методов математического моделирования не только позволило адекватно обработать огромный и сложный эксперимент (3 серии опытов и 10—11 групп животных в каждой), но и построить оригинальную математическую модель адаптации индивидуального организма к стрессу, позволяющую объяснить различные паттерны выживания нематод после воздействия теплового шока различной длительности.

Следует отметить, что, несмотря на то что в нескольких теоретических концепциях и моделях была предпринята попытка объяснить факты, касающиеся стресса, метаболической активности и старения (Sohal, Weindruch, 1996; Parsons, 1995), ни одна из них не была сформулирована в терминах математической модели, которая смогла бы предсказывать или объяснять ре-

зультаты специфических стрессорных экспериментов. В работах А. И. Михальского (Michalski et al., 2001; Михальский, Яшин, 2004) и В. Н. Новосельцева (Новосельцев и др., 2000, 2004; Novoseltsev et al., 2000), применивших методы математического моделирования и статистического анализа, представлены адекватные объяснения наблюдающимся противоречиям.

Эксперименты с использованием возможностей компьютерного моделирования генной регуляции при анализе роли ее хаотического поведения в старении организма позволили выдвинуть гипотезу о том, что, по крайней мере, на генно-регуляторном уровне старение может быть хаотическим процессом, понимаемом не как отсутствие упорядоченности, а как тип динамики сложных систем, управляемых строго детерминированными законами (Соловьев, 2001). Такой подход, по мнению автора, позволяет описать старение с позиции теории информации, как забывание правильного функционирования организма (или забывание состояния здоровья) под влиянием флуктуаций (слабых неспецифических воздействий на систему). Средняя скорость такого забывания, характеризуемая величиной, называемой показателем Ляпунова, может быть отождествлена с показателем силы смертности в уравнении Гомперца, а величина, обратная показателю Ляпунова (время Ляпунова) и характеризующая период, в течение которого система забывает свое начальное (здоровое) состояние, находится в хорошем соответствии с возрастом полового созревания (т. е. минимального возраста, до которого должно сохраняться здоровое состояние) для человека, мыши и плодовой мушки. Время Ляпунова позволяет ввести внутренний «масштаб времени» для хаотических систем, т. е. интервал времени, в течение которого сохраняет свой смысл выражение «две одинаковые» («одни и те же») системы, соответствующие одним и тем же начальным условиям. Расчеты показали, что для человека, мыши и дрозофилы время Ляпунова и периода, достаточного для репродукции, примерно совпадают, что согласуется с данными о том, что большинство физиологических параметров начинает ухудшаться с момента полового созревания. Из хаотической модели генной регуляции следует, что старение должно быть многостадийным процессом (Соловьев, 2001).

В целом подход, который сочетает методы и идеи анализа выживаемости и статистического моделирования с теоретическими концепциями биологии старения, открывает новые направления в анализе и интерпретации данных, полученных в экспериментальных исследованиях старения и продолжительности жизни (Piantanelli et al., 2001; Yashin et al., 2001; Новосельцев и др., 2003; Геронтология *in silico*..., 2007).

Поскольку прямое повторение гомеостатической модели старения для человека сегодня невозможно, В. Н. Новосельцев и соавт. (2003) совершенно справедливо задаются вопросом: что же конкретно можно использовать из результатов моделирования истории жизни животных (в том числе и насекомых) для изучения истории жизни человека?

По их мнению, во-первых, становится более ясной общая картина взаимосвязей между старением на клеточном уровне (накоплением окислитель-

ных повреждений) и реакциями целостного организма. Во-вторых, гомеостатическая парадигма предоставляет исследователям общую базу для оценки тех отношений, которые существуют между параметрами истории жизни и распределением энергетических ресурсов организма. Это особенно важно с точки зрения перспективности для человека известных экспериментальных методов продления жизни у животных.

Авторы подчеркивают, что если отвлечься от генетических манипуляций, то перспективные способы воздействия на параметры истории жизни у животных можно коротко обозначить как «холод, голод и половое воздержание». В этом случае моделирование историй жизни у различных видов животных позволяет прояснить связи между экспериментальным успехом по продлению жизни и исходными ресурсами организма, изначально связанными с каждым из трех типов манипуляций. Так, большое увеличение продолжительности жизни у дрозофилы за счет ограничения потомства, вероятно, объясняется тем, что эта функция исходно потребляет до 40 % всей энергии организма. Не исключено также, что влияние калорического ограничения на продолжительность жизни носит опосредованный характер (через механизм сокращения расходов ресурсов на репродукцию). В настоящее время наиболее перспективным направлением на этом пути В. Н. Новосельцев и соавт. (2003) считают моделирование энергетических компромиссов (баланса энергии, расходуемой на поддержание соматического гомеостаза и на репродукцию). В-третьих, принципиальным достижением моделирования истории жизни у животных в понимании процессов старения у человека, по их мнению, может стать вклад в дискуссию о том, «стареют ли старые организмы медленнее, чем молодые». Моделирование предоставляет дополнительные аргументы в пользу того, что «базовый» процесс старения у человека с увеличением возраста действительно замедляется.

Причины смерти организмов в естественных условиях и при искусственном содержании различны. В дикой природе животные редко доживают до глубокой старости. В отличие от этого в лабораторных исследованиях, когда индивидуальные организмы защищены от воздействий среды, то основной причиной смертности в популяциях становится естественная смерть от старости (Новосельцев и др., 2004). Смерть от старости наступает даже у организмов, которые никогда не болели. В молодом организме гомеостаз поддерживается механизмами, возможности которых многократно превышают необходимый минимум. Однако с возрастом способность поддерживать гомеостаз уменьшается, и в какой-то момент резервы организма уменьшаются настолько, что его восстановление делается невозможным. При этом любое нарушение приведет к фатальному результату, что и станет казушей причиной смерти (Hauflick, 2000; Новосельцев и др., 2004).

Смерть от старости наступит в некотором возрасте  $x_D$ , который определяется из уравнения  $Q(x) = P - W(x)/S(x)$ , где  $Q(x)$  — кислородный ресурс,  $W(x)$  — темп потребления кислорода,  $P$  — атмосферное напряжение кислорода, а  $S(x)$  — возрастное снижение, в случае  $Q(x_D) = 0$  (Новосельцев и др., 2004). Авторы отмечают, что, несмотря на то что кислород не единственное

вещество, участвующее в синтезе АТФ, высказанные положения работают всегда, если только  $W(x)$  — гладкая функция возраста. При скачкообразном изменении зависимости  $W(x)$  из-за сдвигов в окружающей среде в модели появляется нелинейность.

Наконец, моделирование старения у животных позволяет выделить некоторые методические приемы, которые можно непосредственно использовать для оценки параметров истории жизни у человека, не создавая самой модели истории жизни. Примером служит идея сравнения максимально развиваемой мощности и мощности, минимально необходимой для поддержания жизнедеятельности. Этот подход позволил дать оценку абсолютного предела видовой продолжительности жизни у человека в 138—169 лет (Новосельцев и др., 2003). Реально наблюдаемая до настоящего времени максимальная продолжительность жизни находится в интервале 115—120 лет (Olshansky et al., 1990).

### 2.3. ТЕОРИЯ НАДЕЖНОСТИ И СТАРЕНИЕ

Одна из поразительных особенностей природы — многообразие возможных схем ее истолкования.

*Р. Фейнман*

Применение положений теории надежности к старению имеет давнюю историю (Кольтовер, 2004; Gavrilov, Gavrilova, 2006). Анализируя роль свободных радикалов в механизме старения, В. К. Кольтовер (2004) отмечает, что поскольку в живых системах нет цепных свободнорадикальных процессов, эта теория в своем первоначальном виде не в состоянии объяснить экспоненциального роста смертности с возрастом. Он полагает, что возникновение свободных радикалов при старении является следствием такого общего для всех биосистем свойства, как ограничение надежности функционирования, лимитированной генетическими программами.

Количественной характеристикой надежности в интервале времени  $(0, t)$  служит вероятность безотказной работы:

$$R(t) = \text{Prob}(\tau > t) = n(t)/n_0,$$

где  $\tau$  — время безотказной работы объекта в заданном интервале времени, которое является случайной величиной. Статистическая надежность измеряется как отношение числа объектов  $n(t)$ , не утративших работоспособности за время  $t$ , к начальному размеру выборки  $n_0$ . Функция  $R(t)$  называется функцией надежности, а график ее зависимости от времени представляет собой кривую выживания. Вероятность отказа в том же интервале времени определяется как вероятность противоположного события  $G(t)$ , которая равна соответственно  $1 - R(t)$ , а производная от нее по времени, т. е. функция плотности распределения  $g(t) = dG/dt$ , называется частотой отказов (Кольтовер, 2004).

Интенсивность отказов (функция риска) представляет собой условную вероятность возникновения отказов в интервале времени  $(t, t + dt)$  при условии, что объект работал безотказно до момента времени  $t$ , и определяется как:

$$h(t) = -R'/R = -d(\ln R)/dt.$$

Принимая во внимание структурно-функциональную неоднородность и связанную с ней иерархичность живых систем, В. К. Кольтовер (2004) разработал теоретико-надежностную модель старения, в основу которой положены три сформулированные им постулата:

- 1) в организме существует конечное число  $N$  критических структур;
- 2) со временем в критических структурах происходят необратимые изменения стохастического характера, вызванные АФК и другими причинами;
- 3) поскольку каждая из критических структур является одинаково жизненно важной, смерть наступает в тот момент, когда отказывает любая из этих структур.

Из этих постулатов следует, что длительность жизни индивидуума  $\tau = \min \tau_j, j = 1, 2, \dots, N$ , где  $\tau_j = b(m_c - m_j)$ . Параметр  $b > 0$  имеет смысл величины, обратной скорости возрастных изменений в критических структурах. В простом случае, когда параметры  $m_c$ ,  $\alpha$  и  $b$  одинаковы для всех критических структур и не зависят от времени, легко показать, что функция интенсивности смертности эквивалентна «закону Гомперца» и может быть записана как:

$$h(t) = -d(\ln R)/dt = h_0 \exp(\gamma t),$$

где  $h_0 = \gamma N / [\exp(\gamma T) - 1]$  (Кольтовер, 2004). Эта модель позволила автору вычислить  $N$  как 5...15 для числа так называемых «генов продолжительности жизни», а также предположить, что при неограниченно высокой защите от повреждений супероксидом продолжительность жизни человека могла бы достигнуть 250 лет.

#### 2.4. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ СТАРЕНИЯ

Увы, что нашего незнания  
И беспомощней и грустней?  
*Федор Тютчев*

В 1947 г. Е. Schrodinger выдвинул положение, согласно которому возрастание энтропии является неотъемлемой составляющей процесса жизни. Тело животных и человека является средоточием множества химических и метаболических процессов. В некоторой степени стабильность жизни заключается в самой способности организма препятствовать энтропии покоя.



Кинетико-термодинамические аспекты онтогенеза, в частности модели, рассматривающие изменения производства энтропии в процессе старения, опираются, как правило, на работы И. Пригожина. В них принимаются во внимание скорости выделения живых организмов, характеризующие интенсивность биохимических процессов, что, как заметил Г. П. Гладышев (2001), имеет довольно косвенное отношение к старению самой структуры биосистемы. Указывается, что изменения энтропии открытой системы связано не только с тепловыми эффектами процессов, но и с обменом вещества и энергии с окружающей средой.

Г. П. Гладышев активно разрабатывает термодинамическую теорию старения (Gladyshev, 1997, 2002; Гладышев, 1998, 2001). Согласно этой теории, в онтогенезе наблюдается тенденция стремления к наиболее отрицательному значению удельной величины функции Гиббса (свободной энергии Гиббса) образования супрамолекулярных (надмолекулярных) структур тканей организма. Эта тенденция является причиной изменения надмолекулярного и химического составов, а также морфологической структуры тканей при старении. Автор полагает, что его теория позволяет оказывать воздействие не только на организм в целом, но и на отдельные типы клеток и тканей, замедляя или предотвращая их старение. В значительной мере взглядам Г. П. Гладышева соответствует точка зрения О. Туссана (Toussaint et al., 2002), рассматривающего процесс старения как увеличение специфической энтропии, увеличение которой в эволюции может, по крайней мере частично, объяснить феномен увеличения продолжительности жизни. Подчеркивается, что увеличение продолжительности жизни, обусловленной такой энтропией, возможно только у тех видов, которые не используют преимущества большой потенциальной энтропии для уменьшения своей репродуктивной способности как платы за возможное увеличение способности к репарации. Важным следствием развиваемой теории является вывод, что на фоне постоянных генетических характеристик организма возможно «омоложение» и «старение» (органа, ткани или функциональной системы) только за счет изменения условий (параметров) среды обитания. Эти сдвиги возможны лишь в пределах адаптивной зоны (адаптивных возможностей) и являются проявлением термодинамической «силы» окружающей среды в онтогенезе организма (Гладышев, 2001).

D. Yin и K. Chen (2005) отмечают, что основной проблемой энтропийной теории старения, которая обычно игнорируется, является положение, что непременным условием второго закона термодинамики является его приложимость к закрытым энергетическим системам, тогда как любые организмы и даже живые клетки всегда являются открытыми энергетическими системами. Такие открытые системы всегда могут легко получить энергию для преодоления энтропии. Энтропийная теория старения должна прежде всего ответить на вопрос: какие именно биохимические реакции происходят после увеличения энтропии при старении?

В работе Г. Д. Губина и соавт. (1998) предпринята попытка сформировать интегральное представление о закономерностях изменения временной

организации биологических систем в процессе старения. Разграничиваются биологические ритмы, имеющие адаптивное значение, поддерживающие гармонию временных взаимоотношений функций организма и псевдоритмические компоненты, не имеющие адаптивного значения, а также шумы. Показано, что доля последних в процессе старения закономерно возрастает, что переводит биологическую систему в режим нерационального функционирования, способствует дисгармонии биологических процессов. Авторами предложена гипотеза возрастной акциркулярной диссеминации биологических процессов, которая, по их мнению, служит проявлением неспособности стареющего организма адекватно противостоять второму постулату термодинамики и «боротся с энтропией», что может являться отражением дефицита энергетических ресурсов биосистемы.

Как отмечает В. К. Кольтовер (2004), в литературе можно найти немало рассуждений про энтропию и неэнтропию биологических систем, термодинамику необратимых процессов и теорию диссипативных структур, в том числе применительно к онтогенезу и старению. Все эти рассуждения, по мнению В. К. Кольтовера, по существу либо почти бесполезны, как и другие подобные рассуждения на общие темы, либо просто ошибочны, как например в книге В. И. Донцова и соавт. (2002). Чем, например, может помочь понятие энтропии и общие принципы термодинамики химикам, работающим над проблемой синтеза новых геропротекторов, биологам, эти геропротекторы испытывающим в экспериментах с животными, или врачам, работающим над проблемой пересадки органов и тканей для продления жизни человека? Подчеркивается, что возможности термодинамического подхода к биологическим системам ограничены принципиально. Такой же точки зрения придерживаются D. Yin и K. Chen (2005).

## 2.5. БИОДЕМОГРАФИЯ

Если бы человек знал, как жить,  
он никогда бы не умер.

*Р. Уоррен*

В последние годы получила развитие новая научная дисциплина — биодемография (Carey, Vaupel, 2005; Carey, 2007). Биодемография уникальна в двух отношениях. Во-первых, она является одной из немногих субдисциплин, выделившихся из социальных наук, которая охватывает биологию (например, эволюционную психологию, нейроэкономику). Однако в отличие от других наук, которые направлены на биологические субдисциплины (например, неврологию) или концепции (эволюцию), биодемография не имеет точных биологических границ, что делает ее не только более всеобъемлющей междисциплинарной концепцией, но также имеющей глубокие биологические корни дисциплиной.

Во-вторых, все иерархические организации, которыми занимается как биология (клетка, орган, индивидуум), так и демография (индивидуум, когорта, популяция), формируют цепь, в которой индивидуум служит связью между низшим механистическим уровнем и высшим функциональным уровнем. Биодемография идеально предназначена для дополнения и углубления исследований по старению человека через построение теорий, использующих математическое и статистическое моделирование, проверку гипотез экспериментальными методами и поиска совпадений, используя генетические и эволюционные концепции.

Основная проблема в определении исследовательской политики в биодемографических исследованиях состоит в выработке стратегии, которая уравнивает необходимость строить ее на главных исторических усилиях и в то же время поддерживать новые, креативные и, в свое время, исследования с высоким риском, которые могут указать новые направления исследования. Стратегия развития исследований в биодемографии на ближайшее будущее состоит в использовании старения как главной, но не единственной, организационной концепции, распространяющей цели на развитие новых направлений, привлечение новых исследователей, объединяя исследования на механистическом и функциональном уровнях как в лабораториях, так и в естественной среде, и использовании генетики и моделирования как пересекающихся тем (Carey, 2007).

Биодемографические исследования инвалидности являются одним из важных новых направлений не только потому, что эксперименты на лабораторных животных с повреждениями (например, насекомыми) проливают свет на универсальные свойства и характеристики процесса инвалидизации, свойственные инвалидности человека, но также и потому, что результаты исследований повреждений на животных могут дать представления о глубине, содержании и цели исследований по экологии, эволюции и поведению. Примерами в этом направлении могут быть исследования естественной истории инвалидности, экспериментальные манипуляции и искусственная инвалидизация, биодемография инвалидности людей, принципы инвалидности, биодемография смерти (Carey, 2007).

В рамках эволюционной, экологической и поведенческой биодемографии могут развиваться исследования эколого-геронтологических закономерностей, описывающих взаимоотношения между вариациями в продолжительности жизни и окружающей средой, в которой обитает вид. Представляются перспективными исследования в этих направлениях в дикой природе. Другой проблемой в этой области является оценка последствий изменений, происходящих в организме внутриутробно, в частности низкого или избыточного веса тела при рождении, предрасполагающих к хроническим заболеваниям во взрослой жизни.

При изучении биодемографии социальности интерес представляют генетика социального поведения, связь между моделями социальности у человека и животных, в том числе живущих и в дикой природе. Особую ценность имеют исследования этих вопросов на приматах.

Геномная и генетическая биодемография рассматривает значение индивидуальных возрастных изменений в экспрессии генов для продолжительности жизни, а также такие аспекты, как генетика и структура семьи, селекция предпочтительного пола, генетическая предрасположенность к раку или иным хроническим заболеваниям.

Быстро развивающимся направлением биодемографии является более интенсивный математический анализ результатов исследований, включающий исследования по эволюционным теориям, математические модели мутагенеза/отбора, объединенный анализ лонгитудинальных данных, оценку рисков и таблиц дожития, анализ лонгитудинальных траекторий и генных профилей (Яшин и др., 2007; Carey, 2007).

## 2.6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Научные идеи не могут не стареть,  
не стареют лишь лженаучные —  
они гибнут, минуя фазу старения.

*В. Я. Александров*

Прежде чем перейти к рассмотрению вопроса о факторах, модифицирующих скорость старения, необходимо определить, что мы понимаем под термином скорость (темп) старения. В геронтологии сложилась ситуация, когда «имеется множество теорий, разработанных в различной мере, по частным вопросам, но в то же время нет общепринятых определений даже для самых основных понятий» (Стрелер, 1966; Кордюм, 2006). В настоящее время существуют различные определения скорости старения, основанные на рассмотрении процессов, происходящих как в отдельном организме на разных уровнях интеграции, так и на уровне популяции.

Для индивидуума решение вопроса о скорости старения связано с введением понятия биологического возраста и таких понятий как «жизнеспособность» («жизненность»), «уязвимость» и т. п. Скорость старения индивидуального организма будет определяться скоростью изменения во времени какого-то набора констант. Проблема выбора этих констант широко обсуждается в геронтологической литературе и будет рассмотрена ниже (см. главу 19). По сути дела, выбор той или иной системы констант лежит в основе различий существующих теорий и концепций механизмов старения. Анализ этой проблемы представлен в другом месте (Геронтология *in silico*..., 2007). Здесь мы лишь примем, что эти константы могут быть выбраны на разных уровнях интеграции организма:

а) на субклеточном и клеточном уровнях это может быть количество повреждений в ДНК или перекрестных сшивок коллагена, накопление липофусцина, активность ферментов, число рецепторов, гормонов и медиаторов, число возможных делений и т. п.;

б) на уровне тканей и органов — это вес, клеточность, пролиферативная или функциональная активность (мышечная сила, скорость прохождения нервного импульса, острота зрения, синтез гормона или медиатора) и т. п.;

в) на уровне систем — функциональная активность опорно-двигательного аппарата, сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной, иммунной, кровяной систем и подсистем;

г) на уровне целого организма — это функциональная активность основных интегрирующих систем организма, обеспечивающих его жизненный цикл, — адаптационной, репродуктивной, системы обеспечения энергией.

Другой подход к измерению скорости старения основан на анализе выживаемости организма в популяции. Эта проблема также далека от разрешения. В настоящее время используют по крайней мере 4 метода измерения скорости старения популяции по выживаемости (Гаврилов, Гаврилова, 1991; Геронтология in silico..., 2007):

1. Скорость старения оценивается как величина, обратная средней продолжительности жизни.

2. Скорость старения оценивается величиной тангенса угла наклона кривой, описывающей зависимость между кумулятивной смертностью (в пробит-координатах) и возрастом организма. Применение пробит-метода позволяет представить кривую выживаемости в виде прямой, отсекающей на оси времени отрезок, равный возрасту при 50 % смертности. По наклону прямой определяется средняя скорость смертности в процентах, которая рассматривается как показатель скорости старения (Эмануэль и др., 1976).

3. Скорость старения соответствует тангенсу угла наклона кривой, описывающей зависимость между логарифмом вероятности смертности и возрастом. Зависимость, построенная в этих координатах, носит название функции Гомперца (Gompertz, 1825):

$$R = R_0 \cdot e^{\alpha t}, \quad (1)$$

$$\text{или } \ln R = R_0 + \alpha t, \quad (2)$$

где  $R$  — показатель смертности,  $t$  — время,  $e$  — основание натуральных логарифмов,  $R_0 = \ln R$  при  $t = 0$ ,  $\alpha$  — константа, характеризующая наклон кривой.

В тех случаях, когда условия содержания (обитания) популяции стандартны и во времени не изменяются, скорость старения можно выразить через показатель смертности как:

$$dR/dt = R_0 \alpha e^{\alpha t}. \quad (3)$$

Очевидно, что скорость старения популяции характеризуется константой  $\alpha$ , согласно теории смертности Стрелера—Милдвана, находящейся в

обратной зависимости от  $\ln R_0$  (Strehler, 1962). Действительно, с уменьшением  $\alpha$  наклон кривой Гомперца растет.

Полагают, что более удовлетворительно возрастную динамику смертности человека в возрасте от 20 до 80 лет описывает уравнение Гомперца—Мейкема:

$$R = A + R_0 \cdot e^{\alpha t}, \quad (4)$$

где  $A$  — смертность, не зависящая от возраста, а остальные параметры, как в уравнениях 1—3.

4. Скорость старения оценивают по величине абсолютного приращения интенсивности смертности, т. е. скорость старения определяется как величина возрастного ускорения темпов вымирания (Гаврилов, Гаврилова, 1991).

Анализ методов определения скорости старения приводит к выводу, что все перечисленные методы измерения скорости старения являются (в своей основе) эмпирическими и не имеют глубокого теоретического обоснования. Очевидно, что любой из указанных методов измерения скорости старения популяции должен удовлетворять следующему условию: скорость старения нестареющей популяции (т. е. популяции, в которой риск гибели не зависит от возраста) должна быть тождественно равна нулю. Риск гибели в нестареющей популяции описывается уравнением:

$$N(t) = N_0 \exp(-kt), \quad (5)$$

где  $N(t)$  — число доживших до возраста  $t$ ,  $N_0$  — начальная численность популяции, а  $k$  — величина, характеризующая темп гибели.

Учитывая, что величина средней продолжительности жизни нестареющей популяции конечна и равна  $1/k$ , 1-й из указанных выше способов измерения скорости старения, оцениваемой как обратная средней продолжительности жизни величина, очевидно, не удовлетворяет этому условию. Действительно, при такой оценке получается, что нестареющая популяция стареет тем быстрее, чем меньше период удвоения смертности в ней.

Поскольку кумулятивная смертность повышается и в нестареющей популяции, то и способ измерения скорости по тангенсу наклона прямой, описывающей зависимость между пробитами кумулятивной смертности и возрастом (метод 2), не удовлетворяет условию внутренней непротиворечивости. Указывают, что изменения наклона кривой не всегда обязательно соответствуют индивидуальным изменениям темпа старения (Новосельцев и др., 2007).

Как уже отмечалось выше, уравнение Гомперца—Мейкема (4) удовлетворительно описывает смертность в популяциях человека в интервале от 20 до 80 лет и, соответственно, величина константы  $\alpha$ , выводимой из него, характеризует скорость старения лишь в этом возрастном интервале. Хотя и имеются указания на некоторые отклонения величины параметра  $\alpha$  у мужчин и женщин в возрасте 35—75 лет от идеальной, анализ параметров урав-

нения Гомперца—Мейкема позволяет объективно судить об изменениях смертности популяций (Sacher, 1977; de Magalhaes et al., 2005; Геронтология *in silico*., 2007; Яшин и др., 2007). Важно заметить, что этот подход к измерению скорости старения популяции экспериментальных животных особенно надежен в тех случаях, когда внешние условия (условия содержания) не изменяются в течение всего периода наблюдения.

При определении скорости старения по абсолютному возрастному приросту интенсивности смертности (4-й метод) рассчитываемый параметр имеет размерность не скорости, а ускорения. Поэтому неудивителен вывод, что его величина для популяции людей в разных странах в XX веке существенно не изменяется (Гаврилов, Гаврилова, 1991).

Таким образом, при кратком рассмотрении проблемы определения скорости старения мы видим, что она далека от окончательного решения. Анализируя вопрос о факторах, модифицирующих скорость старения, мы будем исходить из предположения, что величина параметра  $\alpha$  в уравнении Гомперца может служить адекватным критерием скорости старения популяции. Другими словами, по изменению тангенса угла наклона кривой Гомперца мы будем судить об ускорении или замедлении старения популяции. Кроме того, в последующих главах будут приведены данные об изменениях, развивающихся в различных тканях, органах и системах при воздействии факторов, влияющих на продолжительность жизни.

### Л и т е р а т у р а

- Акифьев А. П., Потапенко А. И. Биоэсхатология: основные направления и первые результаты исследований // Успехи геронтол. 1997. Т. 1. С. 41—46.
- Анисимов В. Н. «Игра в бисер» для биологов или наука послезавтра? // Биохимия. 2003. Т. 68. С. 292—298.
- Бойко А. Г. На пути к бессмертию. Этюды к четырем эволюционным эшелонам старения. М.: Белые альвы, 2007. 384 с.
- Бутов А. А., Волков М. А. Оптимальное управление параметрами разладки в задаче максимизации энергопродуктивности и результирующая гетерогенность популяции // Проблемы управления. 2004. № 4. С. 54—57.
- Виленчик М. М. Молекулярные механизмы старения. М.: Наука, 1970. 168 с.
- Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С. Биология продолжительности жизни. Количественные аспекты. 2-е изд. М.: Наука, 1991. 280 с.
- Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г. И. Марчука, В. Н. Анисимова, А. А. Романюхи, А. И. Яшина. М.: Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 535 с.
- Гладышев Г. П. Термодинамика старения // Изв. РАН. Сер. биол. 1998. № 5. С. 533—543.
- Гладышев Г. П. Термодинамическая теория старения выявляет причины старения и смерти с позиций общих законов природы // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 42—45.
- Гладышев Г. П., Курнакова Н. В. Движущая сила эволюции живой материи и термодинамическая теория старения // Успехи геронтол. 1998. Т. 2. С. 49—58.
- Голубев А. Г. Взаимная совместимость представлений о старении и продолжительности жизни, их механизмах и проявлениях на уровне организма и популяции и их эволюция // Успехи геронтол. 1997. Т. 1. С. 25—33.

- Голубовский М. Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. СПб.: Борей Арт, 2000. 262 с.
- Губин Г. Д., Губин Д. Г., Комаров П. И. Старение в свете временной организации биологических систем // Успехи геронтол. 1998. Т. 2. С. 67—73.
- Дильман В. М. Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.
- Донцов В. И., Крутько В. Н., Подколзин А. А. Фундаментальные механизмы геропрофилактики. М.: Биоинформсервис, 2002. 464 с.
- Кольтовер В. К. Свободнорадикальная теория старения: современное состояние и перспективы // Успехи геронтол. 1998. Т. 2. С. 37—42.
- Кольтовер В. К. Надежность электронного транспорта в биологических системах и роль свободных радикалов кислорода в старении // Проблемы управления. 2004. № 4. С. 40—45.
- Кордюм В. А. Наша «шагреновая кожа» — это наша проблема. Нам ее и решать. Киев: Логос, 2006. 264 с.
- Макрушин А. В. Как мог возникнуть механизм старческой инволюции // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 50—51.
- Михальский А. И. Методы анализа гетерогенных структур и популяций. М.: Институт проблем управления им. В. А. Трапезникова РАН, 2002. 64 с.
- Михальский А. И., Яшин А. И. Управление старением и продолжительностью жизни // Пробл. управл. 2004. № 4. С. 46—53.
- Михальский А. И., Петровский А. М., Яшин А. И. Теория оценивания неоднородных популяций. М.: Наука, 1989. 120 с.
- Новосельцев В. Н., Аркинг Р., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Междисциплинарное моделирование системных механизмов управления репродукцией и старением // Проблемы управления. 2004. № 4. С. 27—40.
- Новосельцев В. Н., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Старение насекомых. I. Результаты экспериментальных исследований и основные модели // Успехи геронтол. 2000. Т. 4. С. 122—131.
- Новосельцев В. Н., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Старение насекомых. II. Гомеостатическая модель // Успехи геронтол. 2000а. Т. 4. С. 132—140.
- Новосельцев В. Н., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Математические модели истории жизни и баланса ресурсов // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 52—64.
- Новосельцев В. Н., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Математическое моделирование в геронтологии — стратегические перспективы // Успехи геронтол. 2003. Т. 12. С. 80—87.
- Новосельцев В. Н., Швитра Д., Новосельцева Ж. П. Ограниченность продолжительности жизни и ее моделирование // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 2. С. 7—13.
- Оловников А. М. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов // Докл. АН СССР. 1971. Т. 201. С. 1496—1499.
- Оловников А. М. Внутриядерные ионные фонтаны как регуляторы деятельности генома: фонтанная гипотеза доминанты и некоторые эпигенетические эффекты // Мол. биол. 2000. Т. 35. С. 163—176.
- Оловников А. М. Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии // Биохимия. 2003. Т. 68. С. 7—41.
- Оловников А. М. Старение есть результат укорочения «дифферотены» в теломере из-за концевой недорепликации и недорепарации ДНК // Изв. АН СССР. Серия биол. 1992. № 4. С. 641—643.
- Попов И. Ю. Старение видов — факт или иллюзия? // Успехи геронтол. 2008. Т. 21, № 2. С. 181—194.
- Ревской С. Ю. Онкосупрессор bcl-2 как возможный посредник между генотоксическим стрессом и нарушением гормонального гомеостаза // Вопр. онкол. 2001. Т. 47. С. 224—229.
- Розоноэр Л. И., Седых Е. Л. Об эволюционных механизмах самовоспроизводящихся систем // Автоматика и телемеханика. 1979. № 2, 3. С. 110—119, 119—130.
- Романюха А. А., Яшин А. И. Математическая модель возрастных изменений в популяции периферических Т-лимфоцитов // Успехи геронтол. 2001. Т. 8. С. 58—69.



- Скулачев В. П. Старение как атавистическая программа, которую можно попытаться отменить // Вестник РАН. 2005. Т. 75. С. 831—843.
- Скулачев В. П. Старение организма — особая биологическая функция, а не результат поломки сложной живой системы: биохимическое обоснование концепции Вейсмана // Биохимия. 1997. Т. 62. С. 1369—1399.
- Соловьев М. В. О возможной роли хаотического поведения системы генной регуляции в старении организма // Успехи геронтол. 2001. Т. 8. С. 27—33.
- Стрелер Б. Время, клетки, старение. М.: ИЛ, 1966.
- Трубицын А. Г. Модифицированный вариант митохондриальной теории старения // Успехи геронтол. 2006. Т. 18. С. 29—38.
- Хавинсон В. Х., Баринов В. А., Арутюнян А. В., Малинин В. В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб.: Наука, 2003. 327 с.
- Халявкин А. В. Взаимодействие «организм—среда» и причины старения // Успехи геронтол. 1998. Т. 2. С. 43—48.
- Халявкин А. В., Яшин А. И. Нормальное старение как следствие реакции управляющих систем организма на внешние сигналы, не способствующие его полному самоподдержанию. I. Биологические предпосылки // Проблемы управления. 2004. № 4. С. 57—61.
- Эмануэль Н. М. Некоторые молекулярные механизмы и перспективы профилактики старения // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1975. № 4. С. 785—794.
- Эмануэль Н. М., Обухова Л. К., Бунто Т. В., Дьякова В. В. Кинетика выживаемости и экспериментальное определение скорости старения // Изв. АН СССР. Серия биол. 1976. № 6. С. 789—794.
- Яшин А. Я., Романюха А. А., Михальский А. И. и др. Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. С. 7—19.
- Яшин А. И., Украинцева С. В. Новые идеи, методы, проблемы в моделировании демографических и эпидемиологических проявлений старения // Пробл. управл. 2004. № 4. С. 18—26.
- Ames B. N. Low micronutrient intake may accelerate the degenerative diseases of aging through allocation of scarce micronutrients by triage // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 13. P. 17589—17594.
- Ames B. N., Shigenaga M. K., Hogen T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. Vol. 90. P. 7915—7921.
- Andziak B., O'Connor T. P., Qi W. et al. High oxidative damage levels in the longest-living rodent, the naked mole-rat // Aging Cell. 2006. Vol. 5. P. 463—471.
- Anisimov V. N. Premature ageing prevention: limitations and perspectives of pharmacological interventions // Current Drug Res. 2006. Vol. 7. P. 1485—1504.
- Austad S. N. Vertebrate aging research 2006 // Aging cell. 2007. Vol. 6. P. 135—138.
- Barja G. Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction // Ageing Res. Rev. 2002. Vol. 1. P. 397—411.
- Barja G. Aging in vertebrates, and the effect of caloric restriction: a mitochondrial free radical production — DNA damage mechanism? // Biol. Rev. 2004. Vol. 79. P. 235—251.
- Barja G. Free radicals and aging // Trends in Neurosciences. 2004a. Vol. 27. P. 595—600.
- Bartke A., Brown-Borg H., Mattison J. et al. Prolonged longevity of hypopituitary mice // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 21—28.
- Bartke A., Turyn D. Mechanisms of prolonged longevity: mutants, knock-outs, and caloric restriction // J. Anti-Aging Med. 2001. Vol. 4. P. 197—203.
- Bjorksten J. The crosslinkage theory of ageing // J. Am. Geriatr. Soc. 1968. Vol. 16. P. 408—427.
- Blanco M. A., Sherman P. W. Maximum longevity of chemically protected and non-protected fishes, reptiles, and amphibians support evolutionary hypotheses of aging // Mech. Ageing Dev. 2005. Vol. 126. P. 794—803.
- Blüher M., Kahn B. B., Kahn C. R. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue // Science. 2003. Vol. 299. P. 572—574.
- Bortz W. Aging as entropy // Exp. Gerontol. 1986. Vol. 21. P. 321—328.
- Brown K. S., Forbes W. F. A mathematical model of aging processes // J. Gerontol. 1974. Vol. 29. P. 46—51.

- Brunk U. T., Terman A. The mitochondrial-lysosomal axis theory of aging // Eur. J. Biochem. 2002. Vol. 269. P. 1996—2002.
- Butov A. A., Volkov M. A., Anisimov V. N. et al. A model of accelerated aging induced by 5-bromodeoxyuridine // Biogerontology. 2002. Vol. 3. P. 175—182.
- Carey J. R. Biodemography: research prospects and directions // Demogr. Res. 2008. In press.
- Carey J. R., Vaupel J. W. Biodemography // Handbook of Population / Eds D. Poston, M. Michlin. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. P. 625—658.
- Cerami A. Hypothesis: glucose as a mediator of aging // J. Am. Geriatr. Soc. 1985. Vol. 33. P. 626—634.
- Colangelo L. A., Gapstur S. M., Gann P. H. et al. Colorectal cancer mortality and factors related to the insulin resistance syndrome // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2002. Vol. 4. P. 385—391.
- Cutler R. Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1991. Vol. 621. P. 1—28.
- Dasgupta S. A computer simulation for biological aging // J. de physique. 1994. Vol. 4. P. 1563—1570.
- De Benedictis G., Rose G., Carrieri G. et al. Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans // FASEB J. 1999. Vol. 13. P. 1532—1536.
- De Grey A. D. N. J. The reductive hotspot hypothesis of mammalian aging. Membrane metabolism magnifies mutant mitochondrial mischief // Eur. J. Biochem. 2002. Vol. 269. P. 2003—2009.
- De Magalhaes J. P., Cabral J. A. S., Magalhaes D. The influence of genes on the aging process of mice: a statistical assessment of the genetic of aging // Genetics. 2005. Vol. 265. P. 265—274.
- Dilman V. M. Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention Strategy. Chur: Harwood Academic Publ., 1994. 387 p.
- Dilman V. M. Age-associated elevation of hypothalamic threshold to feedback control and its role in development, aging and disease // Lancet. 1971. Vol. 1. P. 1211—1219.
- Dilman V. M., Anisimov V. N. Effect of treatment with phenofromin, diphenylhydantoin or L-DOPA on life span and tumor incidence in C3H/Sn mice // Gerontology. 1980. Vol. 26. P. 241—245.
- Dilman V. M., Anisimov V. N. Hypothalamic mechanism of ageing and of specific age pathology. I. Sensitivity threshold of hypothalamo-pituitary complex to homeostatic stimuli in the reproductive system // Exp. Geront. 1979. Vol. 14. P. 161—174.
- Dilman V. M., Bobrov Yu. F., Ostroumova M. N. et al. Hypothalamic mechanisms of ageing and of specific age pathology — III. Sensitivity threshold of hypothalamopituitary complex to homeostatic stimuli in energy system // Exp. Gerontol. 1979. Vol. 14. P. 217—224.
- Dufour E., Boulay J., Rincheval V., Sainsard-Chanet A. A causal link between respiration and senescence in *Podospora anserine* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 4138—4143.
- Ebbiary N. A. A., Lenton E. A., Cooke I. D. Hypothalamic-pituitary ageing: progressive increase in FSH and LH concentrations throughout the reproductive life in regularly menstruating women // Clin. Endocrinol. 1994. Vol. 41. P. 199—206.
- Eichhorn G. L. Aging, genetics and the environment. Potential of errors introduced into genetic information transfer by metal ions // Mech. Ageing Dev. 1979. Vol. 9. P. 291—301.
- Emanuel N. M. Kinetics and free-radical mechanisms of ageing and carcinogenesis // Age-Related Factors in Carcinogenesis / Eds A. J. Likhachev, V. N. Anisimov, R. Montesano. (IARC Sci. Publ. No. 58). IARC: Lyon, 1985. P. 127—149.
- Facchini F. S., Hua N. W., Reaven G. M., Stoohs R. A. Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? // Free Radical Biol. Med. 2000. Vol. 29. P. 1302—1306.
- Fabrizio P., Pozza F., Pletcher S. D. et al. Regulation of longevity and stress resistance by Sch9 in yeast // Science. 2001. Vol. 292. P. 288—290.
- Fabrizio P., Battistella L., Vardavas R. et al. Superoxide is a mediator of an altruistic aging program in *Saccharomyces cerevisiae* // J. Cell. Biol. 2004. Vol. 166. P. 1055—1067.

- Finch C. E.* Longevity, Senescence, and the Genome. Chicago: Univ. Chicago Press, 1990. 922 p.
- Finch C. E., Kirkwood T. B. L.* Chance, Development, and Aging. New York: Oxford University Press, 2000.
- Gavrilov L. A., Gavrilova N. S.* Reliability theory of aging and longevity // Handbook of the Biology of Aging. 6<sup>th</sup> edition / Eds E. J. Masoro, S. N. Austad. San Diego, CA, USA: Academic Press, 2006. P. 3—42.
- Gershon D.* The mitochondrial theory of aging: is the culprit a faulty disposal system rather than indigenous mitochondrial alterations? // Exp. Gerontol. 1999. Vol. 34. P. 613—619.
- Gladyshev G. P.* Thermodynamic Theory of the Evolution of Living Being. New York: Nova Sci. Publ. Inc., 1997. 100 p.
- Gladyshev G. P.* Thermodynamics theory of biological evolution and aging. Supramolecular thermodynamics is a key to understanding phenomena of life. What is life from a physical chemist's viewpoint // Успехи геронтол. 2002. Т. 9. С. 49—53.
- Gompertz B.* On the Nature of the Function Expressive of the Law of Human Mortality. Phil. Trans. Royal Soc. (London). 1825.
- Greider C. W., Blackburn E. H.* Identification of a specific telomere terminal transferase enzyme with two kinds of primer specificity // Cell. 1985. Vol. 51. P. 405—413.
- Gupta K., Krishnaswamy G., Karnad A., Peiris A. N.* Insulin: a novel factor in carcinogenesis // Am. J. Med. Sci. 2002. Vol. 323. P. 140—145.
- Harman D.* Aging: a theory based on free radical and radical biology // J. Gerontol. 1956. Vol. 11. P. 298—300.
- Harman D.* Free-radical theory of aging: an update: increasing the functional life span // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2006. Vol. 1067. P. 10—21.
- Hatzinger M., Reul J. M., Landgraf R. et al.* Combined dexamethasone/CRH test in rats: hypothalamo-pituitary-adrenocortical system alterations in aging // Neuroendocrinology. 1996. Vol. 64. P. 349—356.
- Hayflick L.* How and why we age // Exp. Gerontol. 1998. Vol. 33. P. 639—653.
- Hayflick L.* New approaches to old age // Nature. 2000. Vol. 403. P. 365.
- Hayflick L.* The future of ageing // Nature. 2000. Vol. 408. P. 37—39.
- Hayflick L., Moorhead P. S.* The serial cultivation of human diploid cell strains // Exp. Cell Res. 1961. Vol. 25. P. 585—621.
- Holmes D. J., Fluckiger R., Austad S. N.* Comparative biology of aging in birds: an update // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 869—883.
- Holzenberger M., Dupont J., Ducos B. et al.* IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice // Nature. 2003. Vol. 421. P. 182—187.
- Huang T. T., Carlson E. J., Gillespie A. M., Epstein C. J.* Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice // J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2000. Vol. 55. P. 85—89.
- Ingram D. K., Zhu M., Mamczarz J. et al.* Calorie restriction mimetics: an emerging research field // Aging Cell. 2006. Vol. 5. P. 97—108.
- Kapahi P., Boulton M. E., Kirkwood T. B. L.* Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress // Free Radical Biol. Med. 1999. Vol. 26. P. 495—500.
- Keyfitz N., Littman G.* Mortality In A Heterogeneous Population // Population Studies. 1979. Vol. 33. P. 333—342.
- Khalyavkin A. V.* Influence of environment on the mortality pattern of potentially non-senescent organisms. General approach and comparison with real populations // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 46—49.
- Khrapko K., Nekhaeva E., Kraytsberg Y., Kunz W.* Clonal expansion of mitochondrial genomes: implications for in vivo mutaton spectra // Mutat. Res. 2003. Vol. 522. P. 13—19.
- Kim S. K.* Common aging pathways in worms, flies, mice and humans // J. Exp. Biol. 2007. Vol. 210. P. 1607—1612.
- Kimura K. D., Tissenbaum H. A., Liu Y., Ruvkun G.* daf-2, an insulin receptor-like gene that regulated longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans* // Science. 1997. Vol. 277. P. 942—946.

- Kirkwood T. B. L. Evolution of ageing // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 737—745.
- Kirkwood T. B. L. The evolution of ageing and longevity // *Phil. Trans. Roy. Soc. London.* 1997. Vol. B352. P. 1765—1772.
- Koltover V. K. Reliability concept as a trend in biophysics of aging // *J. Theor. Biol.* 1997. Vol. 184. P. 157—163.
- Korenchevsky V. *Physiological and Pathological Aging.* Basel: S. Karger. 1961.
- Kowald A. Lifespan does not measure ageing // *Biogerontology.* 2001. Vol. 3. P. 187—190.
- Kowald A., Kirkwood T. B. Toward a network theory of ageing: a model combining the free radical theory and the protein error theory // *J. Theor. Biol.* 1994. Vol. 168. P. 75—94.
- Kraysberg Y., Nekhaeva E., Bodyak N. B., Khrapko K. Mutation and intracellular clonal expansion of mitochondrial genomes: two synergistic components of the aging process? // *Mech. Ageing Dev.* 2003. Vol. 124. P. 49—53.
- Kujoth G. C., Hiona A., Pugh T. D. et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging // *Science.* 2005. Vol. 309. P. 481—484.
- Landis G. N., Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 365—379.
- Lane M. A., Baer D. J., Tilmont E. M. et al. Energy balance in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) subjected to long-term dietary restriction // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 1995. Vol. 50. P. B295—B302.
- Larke A., Crews D. E. Parental investment, late reproduction, and increased reserve capacity are associated with longevity in humans // *J. Physiol. Anthropol.* 2006. Vol. 25. P. 119—131.
- Linnane A. W., Marzuki S., Ozawa T., Tanaka M. Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases // *Lancet.* 1989. Vol. 1. P. 642—645.
- Lupien S. J., de Leon M., de Santi S. et al. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits // *Nature Neurosci.* 1998. Vol. 1. P. 69—73.
- Makeham W. M. On the Law of Mortality, and Construction of Annuity Tables. JIA, VIII, 1860.
- Matsumoto A. M., Marck B. T., Gruenewald D. A. et al. Aging and the neuroendocrine regulation and body weight // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 1251—1265.
- Mattson M. P., Duan W., Lee J. et al. Progress in the development of caloric restriction mimetic dietary supplements // *J. Anti-Aging Med.* 2001. Vol. 4. P. 225—232.
- Medawar P. B. *An Unsolved Problem of Biology.* London: Lewis, 1952.
- Medvedev Z. A. An attempt at a rational classification of theories of ageing // *Biol. Rev.* 1990. Vol. 65. P. 375—398.
- Michalski A. I., Johnson T. E., Cypser J. R., Yashin A. I. Heating stress patterns in *Caenorhabditis elegans* longevity and survivorship // *Biogerontology.* 2001. Vol. 2. P. 35—44.
- Michalski A. I., Yashin A. I. A probabilistic model for cancer prevalence estimation on mortality data // *Models of Noncommunicable Diseases* / Eds W. Morgenstern, E. Chigan, R. Prokhorovskas et al. Berlin—Heidelberg—New York: Springer, 1992. P. 45—53.
- Miquel J., Economos A. C., Fleming J., Johnson J. E. Mitochondrial role in cell ageing // *Exp. Gerontol.* 1980. Vol. 15. P. 575—591.
- Mott J. K., Zhang D., Freeman J. C. et al. Cardiac disease due to random mitochondrial DNA mutations is prevented by cyclosporin A // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 319. P. 1210—1215.
- Mueller L. D., Rose M. R. Evolutionary theory predicts late-life mortality plateaus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 15249—15253.
- Novoseltsev V. N., Carey J., Liedo P. et al. Anticipation of oxidative damage decelerates aging in virgin female medflies: a hypothesis tested by statistical modeling // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 971—987.
- Olovnikov A. M. Hypothesis: Lifespan is regulated by chromomere DNA of the hypothalamus // *J. Alzheimer's Dis.* 2007. Vol. 11. P. 241—252.
- Olovnikov A. M. Telomeres, telomerase and aging: Origin of the theory // *Exp. Gerontol.* 1996. Vol. 31. P. 443—448.
- Olshansky S. J., Carnes B. A., Cassel C. In search of Methuselah: estimating the upper limits to human longevity // *Science.* 1990. Vol. 250. P. 634—640.

- Orgel L. E.* The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to ageing // Proc. Natl. Acad. Sci. 1963. Vol. 49. P. 517—521.
- Orr H. A.* The evolutionary genetics of adaptation: a simulation study // Genet. Res. 1999. Vol. 74. P. 207—214.
- Paolisso G., Barbieri M., Rizzo M. R. et al.* Low insulin resistance and preserved  $\beta$ -cell function contribute to human longevity but are not associated with TH-INS genes // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 37. P. 149—156.
- Papa S., Skulachev V. P.* Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging // Molec. Cell. Biochem. 1997. Vol. 174. P. 305—319.
- Parsons P. A.* Inherited stress resistance and longevity: a stress theory of ageing // Heredity. 1995. Vol. 75 (Pt. 2). P. 216—221.
- Partridge L.* Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 641—650.
- Partridge L., Barton N. H.* Optimality, mutation and the evolution of aging // Nature. 1993. Vol. 361. P. 305—311.
- Penna T. J. P.* A bit-string model for biological aging // J. Stat. Physics. 1995. Vol. 78. P. 1629—1633.
- Piantanelli L., Rossolini G., Basso A. et al.* Use of mathematical models of survivorship in the study of biomarkers of aging: the role of heterogeneity // Mech. Ageing Dev. 2001. Vol. 122. P. 1461—1475.
- Pletcher S. D., Neuhauser C.* Biological aging — Criteria for modelling and a new mechanistic model // Int. J. Modern Physics. 2000. Vol. 11. P. 525—546.
- Rattan S. I. S.* Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals // Free Radical Res. 2006. Vol. 40. P. 1230—1238.
- Revskey S., Redei E.* Decreased in vitro sensitivity to dexamethasone in corticotropes from middle-age rats // Exp. Gerontol. 2000. Vol. 35. P. 237—242.
- Reznick D. N.* Cost of reproduction: an evaluation of empirical evidence // Oikos. 1995. Vol. 44. P. 257.
- Riggs J. E.* Aging and mortality: manifestations of increased information entropy of the genome // Mech. Ageing Dev. 1993. Vol. 66. P. 249—256.
- Robertson O. H., Wexler B. C.* Histological changes in the organs and tissues of senile castrated kokanee salmon (*Oncorhynchus nerka kennerlyi*) // Gen. Comp. Endocrinol. 1962. Vol. 2. P. 458—472.
- Rogers A., Rogers R. G., Branch L. G.* A multistate analysis of active life expectancy // Public Health Reports. 1989. Vol. 104. P. 222—226.
- Ross R. E.* Age-specific decrease in aerobic efficiency associated with increase in oxygen free radical production in *Drosophila melanogaster* // J. Insect. Physiol. 2000. Vol. 46. P. 1477—1480.
- Ross O. A., McCormack R., Curran M. D. et al.* Mitochondrial DNA polymorphism: its role in longevity of the Irish population // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 1161—1178.
- Rossmannith W. G.* Neuroendocrinology of aging in the reproductive system: gonadotropin secretion as an example // Follicular Growth, Ovulation and Fertilization; Molecular and Clinical Basis / Eds A. Kumar, A. K. Mukhopadhyay. New Delhi: Narosa Publ. House, 2001. P. 15—25.
- Sacher G. A.* Abnutzungstheorie // Perspectives in Experimental Gerontology / Ed. N. W. Shock. Springfield: C. C. Thomas, 1966. P. 326—335.
- Sacher G. A.* Life table modification and life prolongation // Handbook of the Biology of Aging / Eds C. E. Finch, L. Hayflick. N. Y.: Van Nostrand Reinhold, 1977. P. 582—638.
- Sacher G. A.* The complementary of entropy terms for the temperature dependence of development and aging // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1967. Vol. 138. P. 680—712.
- Schulz-Aellen M.-F.* Aging and Human Longevity. Boston: Birkhauser, 1997. 283 p.
- Selye H.* Stress and aging // J. Am. Geriatr. Soc. 1970. Vol. 18. P. 112—119.
- Skulachev V. P.* Mitochondria, reactive oxygen species and longevity: some lessons from the Barja group // Aging Cell. 2004. Vol. 2004. P. 17—19.
- Skulachev V. P.* Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms // Mol. Aspects Med. 1999. Vol. 20. P. 139—184.

- Skulachev V. P.* The p66shc protein: A mediator of the programmed death of an organism // IUBMB Life. 2000. Vol. 49. P. 177—180.
- Skulachev V. P.* The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 995—1024.
- Skulachev V. P., Longo V. D.* Aging as a mitochondria-mediated atavistic program. Can aging be switched off? // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2005. Vol. 1054. P. 145—164.
- Sohal R. S.* Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process // Free Radical Biol. Med. 2002. Vol. 33. P. 37—44.
- Sohal R. S., Allen R. G.* Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: a unifying hypothesis // Exp. Gerontol. 1990. Vol. 25. P. 499—522.
- Sohal R. S., Weindruch R.* Oxidative stress, caloric restriction, and aging // Science. 1996. Vol. 273. P. 59—63.
- Stauffer D.* Monte-Carlo simulation for biological aging // Brazil. J. Physics. 1994. Vol. 24. P. 900—906.
- Strehler B. L.* Time, Cells, and Ageing. N. Y.; London: Acad. Press, 1962.
- Strehler B. L., Mildvan A. S.* General theory of mortality and aging // Science. 1960. Vol. 132. P. 14—21.
- Szillard L.* On the nature of the aging process // Proc. Natl. Acad. Sci. 1959. Vol. 45. P. 30—45.
- Terman A.* Garbage catastrophe theory of aging: imperfect removal of oxidative damage? // Redox Report. 2001. Vol. 6. P. 15—26.
- Teriokhin A. T.* Evolutionarily optimal age schedule of repair: computer modelling of energy partition between current and future survival and reproduction // Evol. Ecol. 1998. Vol. 12. P. 291—307.
- Toussaint O., Remacle J., Dierick J.-F. et al.* Approach of evolutionary theories of ageing, stress, senescence-like phenotypes, calorie restriction and hormesis from the view point of far-from-equilibrium thermodynamics // Mech. Ageing Dev. 2002. Vol. 123. P. 937—946.
- Trifunovic A., Wredenberg A., Falkenberg M. et al.* Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase // Nature. 2004. Vol. 429. P. 417—423.
- Troen B. R.* The biology of aging // The Mount Sinai J. Med. 2003. Vol. 70. P. 3—22.
- Van Remmen H., Ikeno Y., Hamilton M. et al.* Life-long reduction in MnSOD activity results in increased DNA damage and higher incidence of cancer but does not accelerate aging // Physiol. Genomics. 2003. Vol. 16. P. 29—37.
- Vaupel J. W., Carey J. R., Christensen K. et al.* Biodemographic trajectories of longevity // Science. 1998. Vol. 280. P. 855—860.
- Vaupel J. W., Yashin A. I.* Heterogeneity's ruses: some surprising effects of selection on population dynamics // Am. Statistica. 1985. Vol. 39. P. 176—185.
- Weinert B. T., Timiras P. S.* Invited review: Theories of aging // J. Appl. Physiol. 2003. Vol. 95. P. 1706—1716.
- Walford D. L.* The Immunological Theory of Aging. Copenhagen: Munksgaard, 1969.
- Weismann A.* Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems. Oxford: Claderton Press, 1889.
- Westendorp R. G., Kirkwood T. B. L.* Human longevity at the cost of reproductive success // Nature. 1998. Vol. 396. P. 743—746.
- Wexler B. C.* Comparative aspects of hyperadrenocorticism and aging // Hypothalamus, Pituitary and Aging / Eds A. V. Everitt, J. A. Burges. Springfield: Ch. C. Thomas, 1976. P. 333—361.
- Williams G. C.* Natural selection, the cost of reproduction and refinement of Lack's principle // Am. Natur. 1966. Vol. 100. P. 687—690.
- Williams G. C.* Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence // Evolution. 1957. Vol. 11. P. 398—411.
- Wise P. M., Smith M. J., Dubal D. B. et al.* Neuroendocrine modulation and repercussions of female reproductive aging // Recent Prog. Horm. Res. 2002. Vol. 57. P. 235—256.
- Xu L., Badr M. Z.* Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats: imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia // Horm. Metab. Res. 1999. Vol. 31. P. 278—282.

- Yashin A. I., Manton K. G.* Effects of unobserved and partially observed covariate processes on system failure: A review of models and estimation strategies // *Stat. Sci.* 1997. Vol. 12. P. 20—34.
- Yashin A. I., Cysper J. R., Johnson T. B. et al.* Ageing and survival after different doses of heat shock: the results of analysis of data from stress experiments with the nematode worm *Caenorhabditis elegans* // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1477—1495.
- Yashin A. I., Ukraintseva S. V., De Benedictis G. et al.* Have the oldest old adults ever been frail in the past? A hypothesis that explains modern trends in survival // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2001. Vol. 56A. P. B432—B442.
- Yashin A. I., Begun A. S., Boiko S. I. et al.* New age patterns of survival improvement in Sweden: do they characterize changes in individual aging? // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 637—647.
- Yashin A. I., Cysper J. W., Johnson T. E. et al.* Heat shock changes the heterogeneity distribution in populations of *Caenorhabditis elegans*: Does it tell us anything about the biological mechanism of stress response? // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2002. Vol. 57. P. B83—B92.
- Yashin A. I., Ukraintseva S. V., Boiko S. I., Arbeev K. G.* Individual aging and mortality rate: how are they related? // *Social Biology.* 2002. V. 49. P. 206—217.
- Yin D., Brunk U. F.* Carbonyl toxification hypothesis of biological aging // *Molecular Basis of Aging* / Ed. A. Macieira-Coelho. N. Y.: CRC Press, Inc., 1995. P. 421—436.
- Yin D., Chen K.* The essential mechanisms of aging: irreparable damage accumulation of biochemical side-reactions // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 455—465.
- Yu B. P., Yang Y.* A critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal for the oxidative stress hypothesis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1996. Vol. 786. P. 1—11.
- Zs.-Nagy I.* A membrane hypothesis of aging // *J. Theor. Biol.* 1978. Vol. 75. P. 189—195.
- Zs.-Nagy I.* The horizons of an interdisciplinary synthesis in experimental gerontology // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1991. Vol. 12. P. 329—439.





*Часть II*

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ  
МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ**



## Глава 3

### ГЕНЕТИКА СТАРЕНИЯ И ДОЛГОЖИТЕЛЬНОСТИ

Но продуман распорядок действий,  
И необратим конец пути.

*Борис Пастернак*

#### 3.1. ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА СТАРЕНИЯ

Чтоб мудро жизнь прожить, знать надобно немало,  
Два важных правила запомни для начала:  
Ты лучше голодай, чем что попало ешь,  
И лучше спи один, чем вместе с кем попало.

*Омар Хайям*

Один из ключевых вопросов геронтологии заключается в выяснении роли генетических факторов в старении. Другими словами, определяется ли генами продолжительность жизни животных и человека? Казалось бы, существенные различия в видовой продолжительности жизни животных различных видов однозначно положительно решают этот вопрос. Так, эти различия варьируют до 1 миллиона раз среди всех видов, живущих на Земле и от 10 до 50 раз внутри групп с одинаковым уровнем организации (Carey, Judge, 2000). Среди млекопитающих рекорд долгожительства принадлежит одной из пород китов, продолжительность жизни которых превышает 200 лет. Вместе с тем лабораторные грызуны живут не более 2—3 лет, тогда как многие другие грызуны такого же размера живут до 5—10 лет и более (Finch, Ruvkun, 2001). Большая вариабельность наследования продолжительности жизни организмов одного вида (табл. 3.1) также не может быть интерпретирована однозначно (Finch, Ruvkun, 2001).

Проанализировав 28 таблиц дожития линий *D. melanogaster*, контрастных по продолжительности жизни и ряду физиологических характеристик, а также их гибридов, С. В. Мыльников (1997) установил, что наследуемость параметров продолжительности жизни составила 80 %, что характерно для признаков, детерминируемых не более чем тремя генами (Мыльников, 1997). Показано, что различия по средней продолжительности жизни и скорости старения между некоторыми линиями плодовых мух определяются одним-двумя генами, локализованными в хромосоме 2 недалеко от центромеры. Изучение вклада трех больших хромосом дрозофилы в детерминацию динамики смертности показало, что у двух пар исходных линий, различающихся по происхождению и целому ряду физиологических ха-

Таблица 3.1

**Наследуемость и вариабельность продолжительности жизни  
у некоторых видов животных (Finch, Tanzi, 1997, с модификациями)**

Вид животных	Наследуемость, %	Коэффициент вариабельности продолжительности жизни, %*	Средняя продолжительность жизни
Нематоды:			15 дней (25 °С)
внутри линии	0	34	
между линиями	34	19 (16—24)	
Плодовые мухи (инбредные линии):			40 дней (25 °С)
внутри линий	<1		
между линиями	6—9	11	
Средиземноморские мухи	Н.О.	45	21 день (25 °С)
Мыши (инбредные линии):			27 месяцев
внутри линии	<1	24 (19—71)	
между линиями	29	16	
Человек (близнецы)	23—35	МЗ: 19; ГЗ: 25	72 года

Примечание. Н.О. — не определяли; МЗ — монозиготные; ГЗ — гетерозиготные; \* — стандартное отклонение продолжительности жизни в популяции в % к средней продолжительности жизни.

рактических, динамика смертности определяется несходным образом, в то время как интенсивность перекисного окисления липидов в значительной мере обусловлена неким фактором (факторами), информация о котором содержится в третьей группе сцепления дрозофилы (Смирнова и др., 2000).

С целью идентификации кандидатных генов в геноме лабораторных мышей нескольких групп использовали так называемый анализ количества штриховых локусов (QTL-анализ). De Naan и Van Zant (1999) обнаружили на хромосоме 11 область, влияющую на продолжительность жизни, перекрывающуюся с QTL, влияющим на скорость деления предшественников гематопозитических клеток. У короткоживущих мышей линии DBA/2 (592 сут.) скорость деления этих клеток была в три раза большей, чем у долгоживущих мышей C57BL/6 (765 сут.), что авторы склонны рассматривать как *in vivo* эквивалент репликативного потенциала *in vitro* (лимита Хейфлика).

Что касается человека, то оценить наследуемость долгожительства можно, исследуя его параметры у членов одной семьи, включая приемных детей (для учета роли условий среды), а также у близнецов. Несмотря на большие трудности в интерпретации подобного материала, связанные прежде всего с существенными различиями условий жизни у представителей разных поколений и смертями от несчастных случаев, некоторые выводы все же можно сделать. В исследовании, включающем 7000 взрослых людей, дольше жили потомки родителей с большей продолжительностью жизни. Лица, чьи роди-

тели прожили более 81 года, имели продолжительность жизни по крайней мере на 6 лет больше тех, чьи родители умерли, не дожив до 60-летия (Abbott et al., 1978).

T. Perls и D. Terry (2003) описали 4 семьи, в которых отмечены случаи наследования исключительного долголетия. Так, в одной из семей столетние были зарегистрированы в 4 поколениях. В другой — у родителей, каждый из которых прожил более 90 лет, было 13 детей, 8 из которых прожили от 90 до 102 лет. В породнившихся двух больших семьях, имевших в двух поколениях долгожителей, в третьем поколении 23 из 46 человек достигли возраста 90—106 лет. И наконец, в потомстве родившейся в XIX веке семейной пары и имевшей 3 детей, среди 16 внуков 7 прожили более 100 лет. Расчеты показали, что вероятность случайного возникновения таких «кластеров» долголетия чрезвычайно маловероятна. Все семьи жили в различных условиях, включая образ жизни и окружающую среду. Авторы полагают, что эти примеры убедительно свидетельствуют о важной роли генетических факторов в исключительном долголетии, но не обязательно свидетельствуют об одинаковой генетической его причине.

Для выявления роли вклада наследственности и факторов среды исследовали частоту различных заболеваний и смертность у приемных детей (Sorensen et al., 1986). Оказалось, что приемные дети, чьи биологические родители умерли рано от неслучайных причин, имели сами в 2 раза больший риск смертности от неслучайных причин. Если причиной ранней смерти одного из биологических родителей было заболевание сердца, человек, воспитанный в семье приемных родителей, все равно имел повышенный в 4 раза риск умереть от инсульта и инфаркта миокарда по сравнению с воспитывавшимися в тех же семьях биологическими детьми своих родителей. Аналогичные закономерности прослежены также в отношении смерти от инфекционных заболеваний.

Результаты большинства исследований долголетия у близнецов свидетельствует о том, что наследуемость продолжительности жизни у человека не превышает 50 % (Finch, Ruvkun, 2001). Особую значимость имеют результаты исследования большой группы шведских близнецов, воспитывавшихся в разных семьях. Оказалось, что максимум одна треть вариативности в общей смертности может быть обусловлена генетическими факторами, тогда как почти все остальные различия связаны с факторами окружающей среды (Ljungquist et al., 1998). Близнецы наследуют специфические гены, которые ограничивают продолжительность жизни, например определяющие предрасположенность к ожирению или атеросклерозу. Важно отметить, что различия в продолжительности жизни фибробластов монозиготных близнецов в культуре были существенно меньше таких различий между культурами фибробластов, полученных от двуяйцевых близнецов. Вместе с тем в ряде наблюдений были получены данные, свидетельствующие о существенной наследуемости долголетия. Так, сиблинги столетних имели в 4 раза большую вероятность прожить 85 лет и более, чем сибсы тех, кто умер до 73 лет (Perls et al., 2002).

В исследовании, выполненном в рамках Европейского генетического близнецового проекта (GenomEUtwin project), объединяющего материалы о 20 502 близнецах (9272 мужчинах и 11 230 женщинах) из Дании, Финляндии и Швеции, родившихся между 1870 и 1910 гг. и наблюдавшихся до 2003—2004 гг., сравнивались данные по однояйцевым (монозиготным) близнецам и двуяйцевым (гетерозиготным) близнецам (Hjelmborg et al., 2006). Средняя продолжительность жизни мужчин-монозиготов увеличивается на 0.39 года в пересчете на каждый год, который проживет их близнец после 60 лет, что достоверно больше, чем у мужчин-гетерозиготов, где этот показатель составляет 0.21 года. Авторы полагают, что до 60 лет генетические влияния на продолжительность жизни минимальны, но увеличиваются после этого возраста. Анализ показал также, что наличие доживших до старческого возраста близнецов существенно и статистически значимо увеличивает шанс достичь такого же старческого возраста, и этот шанс выше у монозиготных близнецов, чем у дизиготных.

Существующие в геронтологии две альтернативные точки зрения привели к противоположным предсказаниям в отношении важности генетических факторов для старения. Согласно первой из них ожидается, что накопление с возрастом уникальных внешних воздействий в течение долгой жизни является главной детерминантой продолжительности жизни и здоровья в старческом возрасте (Harris, 1992), что предсказывает уменьшение наследуемости в старших возрастах. Напротив, сторонники эволюционных взглядов на старение полагают, что уменьшение давления отбора против неблагоприятных генетических мутаций, выраженное только в старших возрастах, предсказывает увеличение генетического разнообразия среди пожилых (Patridge, Gems, 2002). Данные, полученные участниками Европейского близнецового проекта (Hjelmborg et al., 2006), свидетельствуют в пользу второй точки зрения. Влияние генов в старших возрастах может проявляться непосредственно через «гены долголетия», или непрямо, т. е. через гены, ассоциированные с болезнями или состояниями, увеличивающими риск смерти.

Интересны результаты изучения эпигенетических изменений при старении близнецов. Монозиготные близнецы имеют одинаковый генотип, однако большинство монозиготных пар близнецов имеет те или иные фенотипические различия. Среди различных объяснений этого феномена, как показали результаты специальных исследований (Fraga et al., 2005), весьма существенно значение эпигенетических различий. В этой работе авторы использовали в качестве маркеров различия в глобальном и локус-специфическом метилировании ДНК и ацетилировании гистонов. Было установлено, что в молодом возрасте монозиготные близнецы практически не различимы эпигенетически, однако в пожилом и старческом возрасте эпигенетические различия близнецов могут быть весьма существенными. Эти различия проявляются в общем содержании и геномном распределении 5-метилцитозина в ДНК и ацетилировании гистонов, что изменяет профиль геновой экспрессии. Авторы отметили, что все эти различия были более выражены в тех случаях, когда пары близнецов были более старшего возраста, имели раз-

личный стиль жизни, меньшую часть жизни прожили вместе, что свидетельствует о значении факторов окружающей среды в трансляции общего генотипа в различный фенотип.

Лишь в немногих исследованиях оценивалась роль генетических факторов в самых старших возрастах. Только один полиморфизм, а именно APO-E, обычно связан с супердолгожительством (Gerdes et al., 2000). При исследовании полиморфизма кандидатных генов среди сиблингов 308 индивидуумов была обнаружена связь с 4-й хромосомой (локус D4S1564) (Pusa et al., 2001). Однако этот результат не был подтвержден в независимом исследовании на французской популяции (Geesaman et al., 2003). Также не было обнаружено ассоциации между гаплотипом кандидатного гена микросомального белка, переносящего триглицериды, и долгожительством у человека (Nebel et al., 2005).

Исследование 1142 сиблингов в потомстве 348 столетних жителей Окинавы (Япония) показало, что как мужчины, так и женщины имеют по крайней мере вдвое уменьшенную смертность и соответственно в 2.58 раза и 5.43 раза большую вероятность дожить до 90-летнего возраста, по сравнению с 1890 сиблингами обычной популяции жителей Окинавы (Willcox et al., 2006, 2006a).

По данным Ю. П. Алтухова и В. А. Шереметевой (2000), исследовавших 15 этнических популяций в северо-евроазиатских регионах, существует значительная позитивная корреляция между гомозиготностью, определенной по 22 полиморфизмным локусам, и долголетием. К аналогичному выводу пришли М. Bonafe и соавт. (2000), обнаружившие с помощью новой *inter-Alu* PCR технологии увеличение гомозиготности у столетних.

### 3.2. НАСЛЕДСТВЕННОЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЕ СТАРЕНИЕ

Как же уберечь послание жизни в мире,  
отмеченном печатью смерти?

*Артуро Перес-Реверте. Кожа для барабана*

Если убедительных доказательств, свидетельствующих о наследственном увеличении продолжительности жизни у человека, не получено, то наследственное сокращение продолжительности жизни несомненно существует и проявляется в наследственных болезнях преждевременного старения (прогериях) (Михельсон, 1996; Hasty et al., 2003; Richardson, 2003). Такие заболевания встречаются чрезвычайно редко и их частота обычно не превышает одного случая на 1—10 миллионов. Полагают, что наследование идет по аутосомно-рецессивному типу с неполной пенетрантностью. Выделяют две основные формы наследственных прогерий: синдром Хатчинсона—Гилфорда (прогерия детей) и синдром Вернера (прогерия взрослых). Оба синдрома проявляются ускоренным развитием обычных признаков естест-

Таблица 3.2

**Прогерии и сегментарные прогероидные синдромы у человека  
(Hasty et al., 2003; Vijg, Calder, 2004, с изменениями)**

Синдром	Частота	Характер наследования	СПЖ, лет	Гены	Мишень (дефект) в геноме
Синдром Хатчинсона—Гилфорда	$<1/1 \cdot 10^6$	<i>De novo</i>	~13	<i>Ламин А</i> и <i>С</i>	Стабильность ядра и транскрипции?
Синдром Вернера	$<1/1 \cdot 10^5$	Аутосомально-рецессивный	~50	<i>WRN</i>	ДНК-геликаза (RecQ), экзонуклеаза
Синдром Ротмунда—Томсона	$<1/1 \cdot 10^5$	Тот же	Нормальная?	?	ДНК-геликаза (RecQ)
Синдром Кокейна	$<1/1 \cdot 10^5$	»	~20	<i>CSA</i> , <i>ERCC6</i> , <i>ERCC2</i> , <i>ERCC5</i>	Репарация ДНК
Трихотиодистрофия	$<1/1 \cdot 10^5$	»	~10	?	Репарация ДНК, транскрипция оснований
Атаксия—телангиоэктазия	$<1/6 \cdot 10^4$	»	~20	<i>ATM</i>	Повреждение ДНК сигнальной протеин киназы
Синдром Дауна	$<1/1 \cdot 10^3$	<i>De novo</i>	~60	<i>DCR</i>	Антиоксидантная защита?

Примечание. СПЖ — средняя продолжительность жизни.

венного старения, однако в первом случае они начинают развиваться с рождения, и больные редко доживают до 20 лет. Во втором случае ускоренное старение начинается с периода полового созревания, и продолжительность жизни может достигать 30—40 и даже 50 лет (Михельсон, 1996). Отмечают, что смерть наступает при характерных для глубокой старости явлениях угасания функций, либо от типичной возрастной патологии, включая рак, сердечную недостаточность, мозговые нарушения и другие заболевания. К так называемым сегментарным прогериям относят ряд генетических синдромов, отдельные фенотипические проявления которых сходны с нормальным старением: синдром Кокейна, синдром Дауна, синдром Тернера, атаксия-телангиоэктазия (синдром Луи—Бара) и некоторые другие (Martin, 1982; Hasty et al., 2003; Vijg, Calder, 2004) (табл. 3.2).

Метод микрочипов был использован для сравнения различий в экспрессии генов при синдроме Хатчинсона—Гилфорда и у нормальных детей того же возраста или пожилых индивидуумов (Ly et al., 2000). Исследование показало, что имеется значительное перекрытие спектра дисрегулируемых генов между клетками пациентов с прогерией и клетками нормальных пожилых людей. Особенно это касалось генов, участвующих в метаболизме ДНК или РНК. Установлено, что мутации в гене *lamine A*



(*LMNA*) ответственны за возникновение болезни Хатчинсона—Гилфорда (Hutchinson, 2002).

С целью выяснения роли гена *LMNA* в нормальном старении были изучены клетки лиц в возрасте 81—96 лет (Scaffidi, Misteli, 2006). Было установлено, что ядра фибробластов кожи старых людей приобретают дефекты, сходные с наблюдаемыми при прогерии Хатчинсона—Гилфорда, включая модификации гистонов и увеличение повреждения ДНК. Эти изменения были достаточно редки, но были связаны с теми же местами сплайсинга в ламине А, активация которых вызывает указанный синдром прогерии. Угнетение этого места сплайсинга восстанавливает дефекты, ассоциированные со старением, что свидетельствует о вовлечении ламина А в процесс физиологического старения.

Синдром Вернера, а также два других аутосомальных рецессивных нарушения стабильности генома — синдром Блума и синдром Ротмунда—Томсона, характеризуются преждевременным старением, обусловленным мутациями в генах, кодирующих семейство геликаз RecQ — ферментов, ответственных за поддержание целостности генома (Mohaghegh, Hickson, 2001; Bohr, 2002; Kusumoto et al., 2007). Ген, определяющий развитие синдрома Вернера (*WRN*), был клонирован. Применение микрочиповой технологии для изучения генетического профиля позволило установить, что среди ~7000 генов при синдроме Вернера или у старых людей 435 генов (6.3 %) имели уровень экспрессии, отличающийся в >1.5 раз от такового в клетках здоровых молодых людей (Kung et al., 2003). Функция 249 генов была известна, причем 91 % из них имели одинаковый характер изменений при синдроме Вернера и нормальном старении. Большое число генов, вовлеченных в процессинг ДНК или РНК, имели сниженную экспрессию, причем наиболее угнетенной была экспрессия РНК полимеразы II полипептида А. Кроме того, была снижена экспрессия генов, регулирующих рост, например гена рецептора инсулина *INSR*, тогда как экспрессия онкогенов, например *PIMI*, была увеличена. Анализируя результаты работы К. J. Кунг и соавт. (2003), J. Vijg и R. В. Calder (2004) подчеркивают значительное биологическое сходство между синдромом Вернера и нормальным старением, позволяющее с большей уверенностью рассматривать прогерия как модель нормального старения. Более того, раскрытие механизмов возникновения синдрома ускоренного старения позволяет лучше понять процесс нормального старения.

Синдром Блума — редкое заболевание, ассоциированное с мутацией в гене *BLM* и плеiotропными фенотипами, включающими иммунодефицит, нарушенную фертильность, пропорциональную карликовость, зрительные лица, связанную с воздействием солнечного света, и раннее развитие рака всех типов. При синдроме Ротмунда—Томсона, ассоциированного с мутациями в гене *RECQ4*, наблюдается отставание в росте, повышенная фоточувствительность с пойкилодерматозом, развитие катаракты, раннее поседение и облысение, увеличение частоты злокачественных новообразований, главным образом остеосарком. Наследственная нестабильность генома —

главная черта, связывающая эти три синдрома на клеточном уровне, проявляющиеся также различными хромосомными нарушениями (Mohaghash, Nickson, 2001).

К сегментарным прогериям относят синдром Кокейна и атаксию—телангиоэктазию (Martin, 1982). Оба синдрома характеризуются дефектами репарации ДНК, причем, если при синдроме Кокейна случаи новообразований не описаны, то атаксия—телангиоэктазия характеризуется повышенной почти в 1200 раз частотой развития новообразований по сравнению с одно-возрастным контролем (Lehmann, 1985). Для пациентов с синдромом Кокейна характерны длинные руки и ноги, увеличенные кисти рук, микроцефалия, оттопыренные уши, глубоко сидящие глаза, истончение подкожного жира, гипогонадизм, снижение зрения и глухота, прогрессирующая атаксия, замедление умственного развития. Смерть обычно наступает в подростковом возрасте при нарастающих проявлениях нейродегенеративных процессов. Фибробласты таких больных крайне чувствительны к ультрафиолетовому облучению, что может быть использовано при дифференциальной диагностике заболевания.

При синдроме Дауна имеет место трисомия или транслокация 21 хромосомы. У этих пациентов рано развиваются сосудистые заболевания, сахарный диабет, облысение, дегенеративные заболевания костей и суставов и увеличен риск развития злокачественных новообразований. Значительно чаще у них наблюдается деменция альцгеймеровского типа, включая отложения амилоида и нейрофибрилл. Довольно часто больные синдромом Дауна доживают до 50—70 лет (Troen, 2003).

Была исследована способность к иммортализации вирусом Эпштейна—Барра культур клеток здоровых лиц и культуры клеток PR3SP (неиммортализованные диплоидные фибробласты кожи), полученных от пациентки с прогерией взрослых, но отличающейся клинически от классической прогерии Вернера (Спивак и др., 1999). Культура клеток больной прогерией характеризовалась независимым друг от друга снижением репаративных и репликативных процессов. Авторы полагают, что у данной больной ген WRN сам по себе не затронут, а нарушены процессы белкового взаимодействия при регуляции маргинотомии теломер.

М. В. Ковиной и соавт. (2002) проведено всестороннее исследование клеток больного необычной формой преждевременного старения. Клиническая картина не укладывалась ни в одну из известных форм прогерий. Пациент А. Г., 1973 г. рождения, литовец, получавший с 11-летнего возраста интенсивное лечение преднизолоном по поводу аутоиммунного гепатита и противотуберкулезными препаратами в связи с бронхоаденитом, в возрасте 21 года обратился к врачам по поводу быстрого старения. За несколько месяцев у него развились морщины на коже лица, а за 5 лет молодой человек превратился внешне в старика. Исследования, проведенные коллективом, объединившим специалистов из 2 московских и 3 петербургских научно-исследовательских институтов, показали, что больной А. Г., по всей вероятности, страдает синдромом Вернера — наследственной прогерией взрослых, с

некоторыми особенностями клинического течения. Полученные при цитологическом исследовании результаты показали, что фибробласты кожи больного имеют резко ограниченную способность к пролиферации. С помощью флуоресцентной иммуногистохимической гибридизации *in situ* (FISH-метод) по частоте стабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови удалось рассчитать приблизительный биологический возраст больного А. Г. Он оказался равным 56.5—65.8 годам при том, что календарный возраст пациента на момент исследования был равен 28 годам. Результаты клинического и генетического обследования выявили не очень резкие отклонения от нормы, которые, по мнению авторов, являются скорее не причиной, а следствием заболевания.

### 3.3. РЕПРОДУКТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

За все мы платим звонкою монетой —  
За чудо жизни и за пламенность утех,  
За радости любви и что родятся дети,  
За каждый шаг к вершинам и успех.

В. А.

В настоящее время довольно распространена точка зрения, согласно которой генетическая программа развития исчерпывается достижением репродуктивного успеха, то есть рождением потомства, и выживание организма после завершения репродуктивной функции, если и опосредовано геномом, то весьма косвенно (Hauflick, 1998). С эволюционной точки зрения длительный период репродукции дает виду преимущества, тогда как выживание особи после этого периода снижает выживаемость вида (Rose, 1991). Данные о зависимости продолжительности жизни от показателей репродуктивной функции приведены в табл. 3.3 (Larke, Crews, 2006).

Анализ данных о продолжительности жизни и репродуктивной функции у птиц и млекопитающих, живших в неволе (в условиях зоопарка) выявил существенную корреляцию между скоростью возрастного снижения фертильности и скоростью соматического старения (Ricklefs et al., 2003). Ряд недавних публикаций, касающихся связи между возрастом рождения детей и продолжительностью жизни родителей, привлек к этой проблеме пристальное внимание. Было показано, что женщины, которые прожили 100 лет и более, в 4 раза чаще рожали детей после 40 лет, чем те, которые прожили не более 73 лет (Perls et al., 1997). По мнению авторов, поздняя менопауза может быть фактором, способствующим долголетию.

Анализ данных о числе детей и возрасте их родителей в семьях британских аристократов выявил, что эти показатели коррелируют с продолжительностью жизни (Westendorp, Kirkwood, 1998). Оказалось, что среди

**Таблица 3.3**  
**Зависимость продолжительности жизни**  
**от показателей репродуктивной функции (Larke, Crews, 2006)**

	Менархе	1-е роды	Беременности	Менопауза	Доходы	ОПЖ*
Менархе	1	0.033	0.949	0.709	0.185	0.082
1-е роды	-0.32	1	0.0321	0.087	<b>0.014</b>	<b>0.0003</b>
Беременности	0.02	0.02	1	0.40	0.962	0.0437
Менопауза	-0.13	0.54	0.28	1	<b>0.003</b>	0.207
Доходы	-0.43	<b>0.71</b>	0.02	<b>0.80</b>	1	<b>0.006</b>
ОПЖ*	-0.54	<b>0.88</b>	0.26	0.41	<b>0.76</b>	1

Примечание. 1) Величины ниже диагонали — коэффициенты корреляции Пирсона; соответствующие значения достоверности (p) приведены выше диагонали. 2) Статистически значимые величины выделены жирным шрифтом. \* — Ожидаемая продолжительность жизни.

умерших в молодом возрасте (до 20 лет) две из каждых трех женщин были бездетными, тогда как среди проживших более 80 лет таких было менее трети. Ранние роды и большое число детей негативно сказывались на продолжительности жизни женщины. Возраст первых родов был наименьшим у умерших рано и наибольшим у проживших более 80 лет. Шансы дожить до 100 лет имели больше те женщины, которые родили первенца после 40 лет. Интересно, что и мужья жили дольше, если число произведенных ими детей было не слишком велико. Продолжительность жизни дочерей больше коррелирует с продолжительностью жизни матери, чем отца, тогда как у сыновей эта зависимость значительно менее выражена и не коррелирует с полом родителей. Авторы делают вывод о том, что, несмотря на некоторую наследуемость продолжительности жизни (Finch, Ruvkun, 2001), каждый человек должен выбирать между долголетием и продолжением рода (рис. 3.1 и 3.2). У дрозофил, которым не позволяли размножаться, продолжительность жизни увеличивалась.

Используя методы математического моделирования механизмов управления репродукцией и старением, В. Н. Новосельцев и соавт. (2004) показали, что паттерн репродукции у плодовых мух представляет собой минимум две временных функции. Одна из них, названная «энергетическим запросом», как полагают авторы, описывает энергию, необходимую для реализации генетической программы репродукции. Начинаясь с быстрого переходного процесса, она уже на третий день жизни мух выходит на установившееся плато, соответствующее генетически предопределенному темпу производства яиц. В таком состоянии репродуктивная система работает «на полную мощность». Другая функция, обозначенная как «энергетическое предложение», представляет собой уменьшающуюся с возрастом максимальную мощность, которая может быть израсходована организмом дрозофилы в репродуктивной системе. Согласно этой модели в молодом возрасте энергия, которую организм мушки может выделить на производство потом-

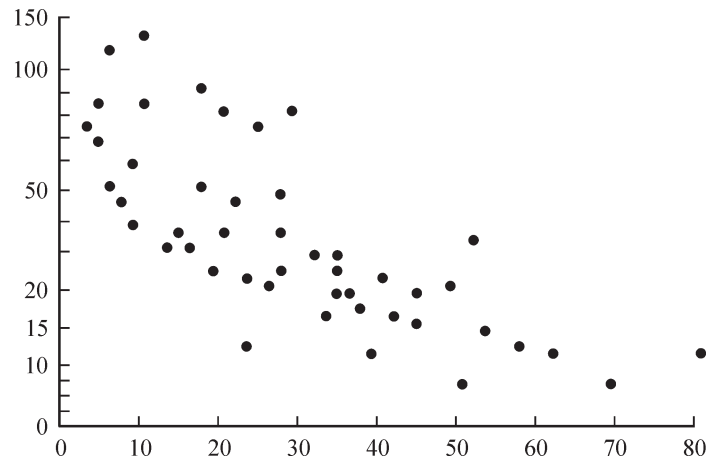


Рис. 3.1. Зависимость между репродуктивным потенциалом и долгожительством у 47 видов млекопитающих.

По оси абсцисс — продолжительность жизни, годы; по оси ординат — потенциальное число потомков, log.

ства, существенно превосходит потребности в этой сфере. В критическом возрасте это предложение снижается ниже того спроса, который необходим для максимально эффективной работы репродуктивной системы. При этом поддержание генетически детерминированного уровня репродукции становится невозможным, и начинается репродуктивная старость (Novoseltsev et al., 2003; Новосельцев и др., 2004). Авторы показали, что изучение инди-

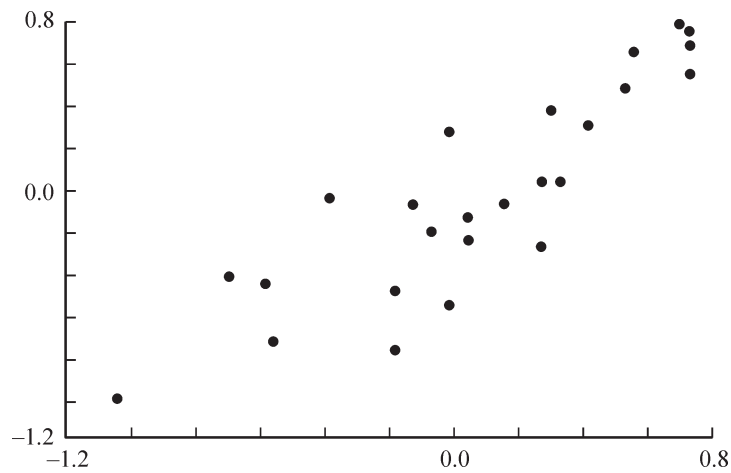


Рис. 3.2. Зависимость между относительным возрастом первых родов и продолжительностью жизни.

По оси абсцисс — относительная продолжительность жизни; по оси ординат — относительный возраст первых родов.

видуального паттерна репродукции дает возможность выявить гетерогенность популяции и проанализировать различные типы плодовых мушек. Так, оказалось, что 6.4 % популяции составляют мухи, которые всю жизнь не несли яиц, 12.8 % мух умирает во время периода активного яйценесения, 6.5 % мух прекращают яйценесения задолго до конца их жизни, и 74.5 % составляют мухи с наилучшим распределением ресурсов и выраженным периодом старения. Такой подход позволил выявить различные типы распределения смерти в этих популяционных группах.

Проанализировав данные о гетерозиготности генома у 77 зоологических и 30 ботанических видов, Ю. П. Алтухов (1996) установил, что она с большей степенью достоверности коррелирует со скоростью полового созревания и отрицательно — с продолжительностью жизни. Чем больше индивидуальная гетерозиготность, тем большие энергетические затраты организма приходится на этот период онтогенеза, выше темпы развития, раньше наступает половозрелость и возраст первой репродукции и соответственно короче оказывается жизнь. Подчеркивается, что долгожительство человека, как и у других биологических видов, определяется высокой индивидуальной гомозиготностью.

Другим аспектом проблемы продолжительности жизни потомства является оценка генетического груза мутаций, полученных родителями в процессе старения. Частота мутаций в половых клетках мужчин много выше, чем у женщин, и пропорциональна возрасту. В случае отцовства в позднем возрасте потомство подвергается большему риску генетических нарушений и соответственно риску иметь меньшую продолжительность жизни (Crow, 1997). Особенно это касается дочерей старых отцов. Продолжительность жизни у таких дочерей явно короче. В сперматогенных клетках старых мышей частота мутаций была увеличена по сравнению с таковой у молодых самцов или особей среднего возраста (Walter et al., 1998). Однако анализ данных по 320 столетним, рожденным во Франции между 1875 и 1890 гг. и умершим между 1990—1999 гг., показал, что возраст отцов на момент рождения лиц, достигших ста лет, не отличался от возраста отцов контрольной популяции, причем и у дочерей (Robine et al., 2003).

В опытах на крысах не наблюдалось различий в продолжительности жизни потомства, произведенного молодыми (3 мес.) самками и самцами и молодыми самками и старыми (27 мес.) самцами, однако потомство старых самцов было значительно более чувствительно к канцерогенному действию N-нитрозометилмочевины (Anisimov, Gvardina, 1995), что свидетельствует в пользу точки зрения о накоплении с возрастом генетических повреждений в мужских половых клетках. В эпидемиологических исследованиях установлен повышенный риск развития опухолей нервной системы, ретинобластомы и острого лимфобластного лейкоза у потомства старых родителей, особенно отцов (Hemminki, Kuurtonen, 1999; Dockerty et al., 2001).

### 3.4. ГЕНЫ ГИБЕЛИ И ДОЛГОЛЕТИЯ У КРУГЛЫХ ЧЕРВЕЙ

Что ты знаешь об этом деле? Ничего.

Льюис Кэрролл. Алиса в Стране чудес

В последние годы существенный прогресс в исследовании генетики старения связан с работами на беспозвоночных (нематодах и плодовых мушках) (Finch, Ruvkun, 2001). Нематода *Caenorhabditis elegans* является идеальной моделью для идентификации генов смерти и долголетия. Продолжительность жизни этого червя составляет около 20 дней, что весьма удобно для изучения эффектов генов и генетических модификаций. Черви размножаются гермафродитическим самооплодотворением, что ведет к созданию популяций генетически однотипных червей. Каждая особь состоит из 959 соматических клеток. За исключением половых клеток, соматические клетки взрослой нематоды не делятся, т. е. являются постмитотическими. Было установлено, что с возрастом у нематоды развиваются нарушения в мышцах, весьма напоминающие саркопению у человека (Herndon et al., 2002). При этом нервная система не претерпевает значительных изменений до глубокой старости.

Существование популяций *C. elegans* с разной длительностью жизни убедительно свидетельствует о том, что темп старения находится под генетическим контролем. С помощью химических мутагенов удалось получить червей с большей на 50 % средней и большей на 100 % максимальной продолжительностью жизни, чем у их предшественников. Был идентифицирован ген *age-1*, модификация или супрессия продукта которого приводила к увеличению продолжительности жизни. *Age-1* определяет активацию спермы,



Рис. 3.3. Генетическая регуляция продолжительности жизни *C. elegans* (Schaffitzel, Hertwick, 2006).

JNK-1 — c-Jun N-концевая киназа; SIP-2.1 — NAD<sup>+</sup>-зависимая гистон ацетилаза; SNK-1 — сходный с pZIP транскрипционный фактор; TOR — мишень для киназы рапамицина; TUBBY — семейство генов, регулирующих отложение жира.

он рецессивен и плотно сцеплен с геном *fer-15*, влияющим на репродукцию. Разделить эти два гена с помощью кроссинговера не удалось, поэтому предположили, что *age-1* и *fer-15* являются одним и тем же геном, при этом одной из функций продукта дикого типа гена *age-1* может быть усиление репродуктивных свойств, а другой — снижение продолжительности жизни, и следовательно *age-1* может быть одним из регуляторов процесса старения по крайней мере для этого вида (Jazwinski, 1998; Finch, Ruvkun, 2001).

Было обнаружено, что мутации в ряде других генов, названных «часовыми генами» (*clk-1*, 2 и 3), также влияют на продолжительность жизни *C. elegans*. Генетический анализ выявил червей со специфическими комбинациями мутаций, живущих в пять раз дольше, чем нормальные, с удлинением каждой фазы жизненного цикла. Показано, что группа генов *C. elegans*, имеющих отношение к контролю продолжительности жизни (*age-1*, *daf-2*, *daf-23*, *spe-26*, *clk-1*), является частью общего генетического пути и контролируется геном *age-1*. Весьма важным является наблюдение, что ген *daf-2* является гомологом рецептора инсулина (Finch, Ruvkun, 2001). Уменьшение активности этого гена приводит к существенному (в 2 раза) увеличению продолжительности жизни нематод. Были идентифицированы механизмы участия *daf-2* в этом процессе (Apfeld, Kenyon, 1998). Изучение возрастной динамики экспрессии полного транскрипта нематоды показало, что увеличение активности генов *ins-2* и *ins-18* у старых нематод ответственно за снижение передачи сигнала инсулина и устойчивости к стрессу (Lund et al., 2002).

Наиболее полная сводка генетических модификаций, приводящих к увеличению продолжительности жизни нематод, представлена в обзорах А. В. Халявкина и А. Я. Яшина (Khalyavkin, Yashin, 2003) (табл. 3.4), а также Е. Schaffitzel и М. Hertweck (2006). Авторы усматривают существенную роль особых мутаций генов, продукты которых вовлечены в процессы регуляции как на внеклеточном, так и на внутриклеточном уровнях, и полагают, что разница в реакциях интактных и мутантных животных на сходные совокупности сигналов окружающей среды позволяет лучше понять вклад взаимодействия организм—среда в особенности старения, смертности и долголетия соответствующих организмов и происхождение естественного старения и его зависимости от внешних условий (рис. 3.3). В пользу этой точки зрения свидетельствуют также данные об участии *SIR2* в возникновении у нематоды *C. elegans* регуляторных процессов, определяющих стратегии выживания в условиях стресса, вызванного факторами окружающей среды (Hekimi, Guarente, 2003). Среди этих факторов как причина старения у *C. elegans* ведущую роль играют активные формы кислорода, которые наряду с системами детоксикации лимитируют физиологические процессы и в конечном счете продолжительность жизни нематоды. Имеются наблюдения, что суперэкспрессия *SIR2* ортолога, *sir-2.1* сопровождалась увеличением продолжительности жизни нематод на 50 %, и это увеличение реализовалось при участии транскрипционного фактора FOXO DAF-16, который регулируется системой инсулин/IGF-1 (Tissenbaum, Guarente, 2001). Было также установлено, что *sir-2.1* играет основную роль в регуляции продол-



Таблица 3.4

Увеличение продолжительности жизни у *C. elegans*, связанное с генетическими модификациями (Khalyavkin, Yashin, 2003, с изменениями)

Ген	Продукт гена/функция	Генетическая модификация	Увеличение продолжительности жизни, %
<i>age-1</i>	PI-3-киназа	Мутация	100
<i>age-2</i>	Неизвестно	»	15—20
<i>Seinsulin-1</i>	Лиганд к DAF-2	»	30—40
<i>che-2</i>	WD40 (бета-трансдуцин)	»	50
<i>che-3</i>	Тяжелая цепь цитозольного динеина	»	50—100
<i>che-11</i>	Неизвестно	»	40
<i>che-13</i>	»	»	40
<i>clk-1</i>	Белок синтеза убихинона	»	30
<i>clk-2</i>	Белок TEL2	»	12—25
<i>clk-3</i>	Неизвестно	»	24—37
<i>daf-2</i>	Тирозин киназа рецептора IGF-1	»	100
<i>daf-6</i>	Неизвестно	»	50
<i>daf-9</i>	Цитохром P450	»	52—74
<i>daf-10</i>	Неизвестно	»	60
<i>daf-12</i>	Гормональный рецептор	»	9.2
<i>daf-16</i>	Forkhead фактор транскрипции	Суперэкспрессия	20
<i>daf-19</i>	Фактор транскрипции RFX	Мутация	50
<i>daf-21</i>	Hsp90	»	50
<i>daf-28</i>	Неизвестно	»	10—15
<i>des</i>	Неизвестный белок	»	60
<i>eat-1</i>	Неизвестно	»	10—30
<i>eat-2</i>	Субъединица н-ацетилхолинового рецептора	»	20—30
<i>eat-3</i>	Неизвестно	»	10
<i>eat-6</i>		»	15—40
<i>eat-13</i>		»	30
<i>eat-18</i>		»	15—60
<i>ef-2-k</i>	Фосфорилирование и инактивация фактора элонгации-2 (eEF-2)	»	25—30
<i>glp-1</i>	Рецептор сигнала зародыша	»	30
<i>gro-1</i>	Неизвестно	»	29
<i>hg25</i>		»	13—17
<i>hg96</i>		»	15—26
<i>hg246</i>		»	17—29
<i>INS human</i>	Инсулин человека	Суперэкспрессия	25
<i>ins-1</i>	Инсулин-подобный белок	»	25
<i>isp-1</i>	FeS-белок митохондриального комплекса III	Мутация	60—100
<i>mec-8</i>	Связывающийся с РНК сплайсинг фактор	»	60

Таблица 3.4 (продолжение)

Ген	Продукт гена/функция	Генетическая модификация	Увеличение продолжительности жизни, в %
<i>mes-16</i>	Белок раннего асимметричного деления	Мутация	60
<i>osm-1</i>	Неизвестно	»	40
<i>osm-3</i>	Домен моторного кинезина	»	100
<i>osm-5</i>	Член семейства TPR	»	100—150
<i>osm-6</i>	Формирование дауер-состояния	»	40
<i>Pdk-1</i>	Серин/треонин киназа	»	60
<i>pgl-1</i>	Компонент зародышевой линии Р	»	35
<i>rad-8</i>	Неизвестно	»	30
<i>sir-2.1</i>	Гомолог НАД-зависимой ацетилазы гистонов	Суперэкспрессия	50
<i>spe-10</i>	Неизвестно	Мутация	20
<i>spe-26</i>	Связывающий актин белок семейства Kelch	»	60
<i>tax-4</i>	Гетеромерный циклический нуклеотидный канал	»	100
<i>tkr-1</i>	Рецептор тирозинкиназы	Суперэкспрессия	40—100
<i>unc-4</i>	Нейрональный гомеодомен фактора транскрипции	Мутация	100
<i>unc-13</i>	Фактор синаптической передачи	»	150
<i>unc-26</i>	Неизвестно	»	30—50
<i>unc-31</i>	»	»	70—150
<i>unc-32</i>	$\alpha$ -субъединица АТФазы	»	170
<i>unc-64</i>	Гомолог синтаксина	»	70—150
<i>unc-76</i>	Белок семейства FEZ	»	50

жительности жизни нематод ограниченной калорийно диетой, причем этот ген имеет как общие с *daf16* регуляторные влияния на продолжительность жизни, так и независимые от него механизмы (Wang, Tissenbaum, 2006).

Следует заметить, что возможно и альтернативное объяснение увеличения продолжительности жизни *C. elegans*, поскольку эти мутации могут изменять интенсивность основного обмена (Van Voorthies, Ward, 1999). Было установлено, что у долгоживущих нематод снижен основной обмен по сравнению с особями дикого типа. Более того, генетический супрессор, который восстанавливал у долгоживущих нематод нормальную продолжительность жизни, нормализовал и интенсивность основного обмена. Таким образом, возможно, что увеличение продолжительности жизни у некоторых мутантных нематод может быть следствием снижения обмена у них, а не определяться вмешательством в генную регуляцию, приводящую к долголетию (Van Voorthies, Ward, 1999). Более того, указывают, что плеiotропность многих генов и отсутствие адекватного количественного анализа ре-

зультатов опытов с генетически модифицированными нематодами могут приводить к ошибочной интерпретации их и в целом к ложным выводам (Gems et al., 2002). Указывают, что старение нематоды не связано с укорочением теломер (Raices et al., 2005). Поскольку клетки взрослой нематоды являются постмитотическими, эта модель не может быть использована для изучения связанных со старением процессов в пролиферирующих тканях (Kirkwood, Finch, 2002; Schaffitzel, Hertweck, 2006).

### 3.5. ГЕНЫ ГИБЕЛИ И ДОЛГОЛЕТИЯ У ПЛОДОВЫХ МУХ

Нет, бытие — не зыбкая загадка:  
Подлунный дом и ясен, и росист.  
Мы — гусеницы ангелов; и сладко  
Вьедаться с краю в нежный лист.

Владимир Набоков

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* — также хорошая модель для изучения генетических компонентов долголетия. Как и в случае с *C. elegans*, мутанты дрозофилы, имеющие разную продолжительность жизни, были индуцированы с помощью химического мутагенеза. Среди полученных линий некоторые имели мутации в гене Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД). Гомозиготные по этому гену мутанты развивались нормально, но продолжительность их взрослой жизни сократилась с 60 до 10 дней (Phillips et al., 1989). Было показано, что эти мутанты имеют повышенную чувствительность к веществам, продуцирующим свободные радикалы, и имеют недостаточно активную сперму, что может указывать на важность СОД в защите ДНК от повреждений в ходе гаметогенеза. С другой стороны, особи с увеличенным числом копий генов СОД и каталазы имели большую на 20—37 % среднюю и максимальную продолжительность жизни, тогда как мухи с избыточными копиями генов лишь одного из этих ферментов антиокислительной защиты таким эффектом не обладали (Orr, Sohal, 1994). Трансгенные дрозофилы с избыточной экспрессией гена *SOD1* в мотонейронах жили на 40 % дольше и были значительно устойчивее к окислительному стрессу, чем мухи, не имевшие этого гена (Parkes et al., 1998).

Используя специальную методику получения трансгенных дрозофил с геном *Cu,Zn-SOD*, сверхэкспрессированным короткими нагреваниями, активирующими регулируемый промотором *hsp70* рекомбиназу FLP, удалось получить линию с увеличенной на 48 % продолжительностью жизни (Sun, Tower, 1999). Избирательная сверхэкспрессия одного гена каталазы в этих опытах не сопровождалась увеличением продолжительности жизни, а в тех случаях, когда избыточно экспрессировались гены как СОД, так и каталазы, мухи жили меньше, чем особи только с трансгеном *Cu,Zn-SOD*.

При inserции гена белка теплового шока *Hps70* установлена положительная корреляция между числом копий гена (количеством экспрессиро-

ванного белка) и продолжительностью жизни дрозophil (Tatar et al., 1997). Эти наблюдения, как и ряд других, свидетельствуют о важной роли белков теплового шока Hsp для долголетия. Было также установлено, что сверхэкспрессия Hsp70 может защищать нейроны от дегенерации в дрозофильных моделях нейродегенеративных заболеваний, например болезни Паркинсона или Хантингтона (Link, 2001).

У дрозophil система передачи сигнала от инсулина и инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) регулирует размеры тела и так же, как и у нематод, продолжительность жизни. Мутации в регуляторном участке гомолога рецептора инсулина (*chico*) у дрозophil сопровождаются увеличением продолжительности жизни на 45 % (Clancy et al., 2001). Если же мушки были гетерозиготны по двум различным мутациям в рецепторе инсулина/IGF-1, то продолжительность их жизни была на 85 % дольше особей дикого типа (Tatar et al., 2001). При этом мушки были стерильны, и их яичники напоминали яичники мух дикого типа в диапаузе. Оба типа мутаций в рецепторе инсулина сопровождались также увеличением активности СОД. Хотя параллели между системами регуляции инсулина у нематод и плодовых мух весьма отчетливы, имеются и определенные различия. Полагают, что не все компоненты механизма передачи сигнала инсулина имеют отношение к регуляции продолжительности жизни (Kenyon, 2001). У плодовых мух *Sir2* ортолог *dSir2* увеличивает продолжительность жизни (Rogina, Helfand, 2002). У линий дрозophil с отсутствием *dSir2* ограничение калорийности питания не увеличивает продолжительность жизни, что свидетельствует о том, что у плодовых мух эффект такой диеты реализуется через *Sir-2*-зависимый механизм.

Lin и соавт. (1998) идентифицировали линию дрозophil с инсерцией *P*-элемента транспозона, которые жили на 35 % дольше особей дикого типа. Эта мутация, названная *Mth* («мафусаилова» от Methuselach — Мафусаил), повышала устойчивость к стрессу, вызванному самыми различными факторами, такими как голодание, нагревание или добавление в корм генератора активных форм кислорода параквата.

Среди линий плодовых мух с инсерцией *P*-элемента были обнаружены долгоживущие мутанты *Indy* (I am not dead yet) с двукратно увеличенной средней продолжительностью жизни и увеличенной на 50 % максимальной продолжительностью жизни (Rogina et al., 2000). Этот ген кодирует белок, гомологичный ко-переносчику Na-дикарбоксилазы млекопитающих, ответственной за захват и обратный захват таких субстратов в цикле Кребса, как янтарная кислота, цитрат и альфа-кетоглутарат.

Также к увеличению продолжительности жизни дрозophil приводит мутация в рецепторе стероидного гормона экдизона (Simon et al., 2003). Гетерозиготные мухи с такими мутациями живут на 40—50 % дольше мух дикого типа и характеризуются повышенной устойчивостью к стрессу. У них отсутствуют дефекты в овогенезе и сперматогенезе, что позволяет предполагать, что увеличение продолжительности жизни у этих мутантов обусловлено изменениями в репродуктивной системе. У гетерозиготных *EcR* мух

фертильность и плодовитость увеличивалась по сравнению с диким типом. Таким образом, увеличение продолжительности жизни мух, достигаемое снижением активности рецепторов к экдизону (*EcdR*), не приводит к утрате или снижению репродуктивного потенциала. Следует отметить, что увеличение продолжительности жизни наблюдали при мутациях в рецепторе экдизона у дрозофил другой линии (Canton-S), а также при индукции мутаций в других локусах, в частности в домене связывающего лиганда и ДНК связывающего домена, и при реципрокном скрещивании мутантов (Simon et al., 2003). Авторы этой работы полагают, что по крайней мере два различных компонента одного метаболического пути (рецептор и лиганд) могут контролировать долгодетие у мух. Интересным и важным является наблюдение, что мутации, приводящие к увеличению продолжительности жизни, увеличивают также фертильность и плодовитость дрозофил.

Ускоренное старение у *D. melanogaster* является результатом не только мутаций в специфических генах, но может также быть результатом изменений в экспрессии эпигенетических факторов. Так, у старых мушек было обнаружено резкое снижение экспрессии белка фактора элонгации EF-1a, предшествующее общему снижению синтеза белков. Когда с помощью генетических манипуляций в геном мух были добавлены дополнительные копии гена EF-1a, то наблюдали значительное увеличение продолжительности жизни этих мух (Shepherd et al., 1989).

Таблица 3.5

Мутации, увеличивающие продолжительность жизни у *D. melanogaster* (Aigaki et al., 2002, с модификациями)

Мутация, ген	Продукт гена	Тип мутации	Изменение продолжительности жизни, %	Авторы
<i>Mth</i>	Белок, связанный с G-рецептором	Гипоморфный	+35	Lin et al., 1998
<i>Indy</i>	Ко-переносчик Na-дикарбоновых метаболитов в цикле Кребса	»	+100	Rogina et al., 2000
<i>Chico</i>	Субстрат рецептора инсулина	Нокаут	+48	Clancy et al., 2001
<i>InR</i>	Инсулинподобный рецептор	Гипоморфный	+50	Tatar et al., 2001
<i>Cu,Zn-SOD</i>	Cu,Zn-СОД	Суперэкспрессия	+48	Sun, Tower, 1999
<i>Cu,Zn-SOD, catalase</i>	Cu,Zn-СОД и каталаза	»	+33	Orr, Sohal, 1994
<i>Hsp70</i>	Молекулярный шаперон	»	+7.9	Tatar et al., 1997
<i>DPOSH</i>	Опорный белок	»	+14	Seong et al., 2001

Суммируя результаты исследований по мутагенезу у дрозофил, приводящему к увеличению продолжительности их жизни (табл. 3.5), Aigaki и соавт. (2002) подчеркивают, что такие мутации не могут быть частыми. Важно не только, какой ген мутирован, но и как он мутирован. Другое потенциальное ограничение заключается в плейотропности мутаций.

### 3.6. ГЕНЫ ДОЛГОЛЕТИЯ У МЫШЕЙ

Дело в том, что исчезла граница  
между вечностью и веществом,  
и на что неземная зеница,  
если вензеля нет ни на чем?

Владимир Набоков

Применение методов генной инженерии позволило получить линии мышей с увеличенной продолжительностью жизни. Гомозиготные мыши с «выключенным» геном рецептора гормона роста ( $GHR^{-/-}$ ) живут значительно дольше, чем гетерозиготные ( $GHR^{+/-}$ ) животные или мыши дикого типа ( $GHR^{+/+}$ ) (Kopchick, Laron, 1999; Coschigano et al., 2000). У мышей  $GHR^{-/-}$  наблюдается замедление роста, пропорциональная карликовость, уменьшение длины костей и содержания костных минералов, отсутствие рецептора гормона роста (ГР) и ГР-связывающего белка, значительное уменьшение содержания в крови IGF-1 и связывающего его белка-3, и увеличение в сыворотке крови концентрации ГР.

Карликовые мыши Эймса являются гомозиготными аутосомально-рецессивными мутантами, несущими единичные точечные мутации в гене *Prophet pit-1* и живут на 50—64 % дольше (самцы и самки, соответственно), чем «дикий» тип (Brown-Borg et al., 1996; Brown-Borg, Rakoczy, 2000). Эта модель — один из первых примеров способности единичного гена значительно продлевать жизнь у млекопитающих. У этих мышей снижен уровень пролактина, тиреоидстимулирующего гормона (ТСТ), гормона роста (ГР), инсулинподобного фактора роста 1 (IGF-1) и инсулина в крови, повышена чувствительность к инсулину и понижена температура тела (Bartke et al., 2001). Как самцы, так и самки карликовых мышей бесплодны, у них выражена иммунодепрессия. Показано, что у этих мышей в печени снижен уровень глутатиона и аскорбиновой кислоты и увеличена активность каталазы по сравнению с контролем, что проявляется большей устойчивостью к окислительному стрессу (Mattison, 2000). Карликовые мыши Снелл (Snell), у которых имеется мутация в гене *Pit1* (гипофизарно-специфичный транскрипционный фактор 1), также живут много дольше, чем нормальные мыши, что связывают с дефицитом у них продукции гормона роста (Flurkey et al., 2001).

У самок гетерозиготных мышей  $Igf1r^{+/-}$  с частично нокаутированным геном рецептора IGF-1 наблюдали увеличение средней продолжительности

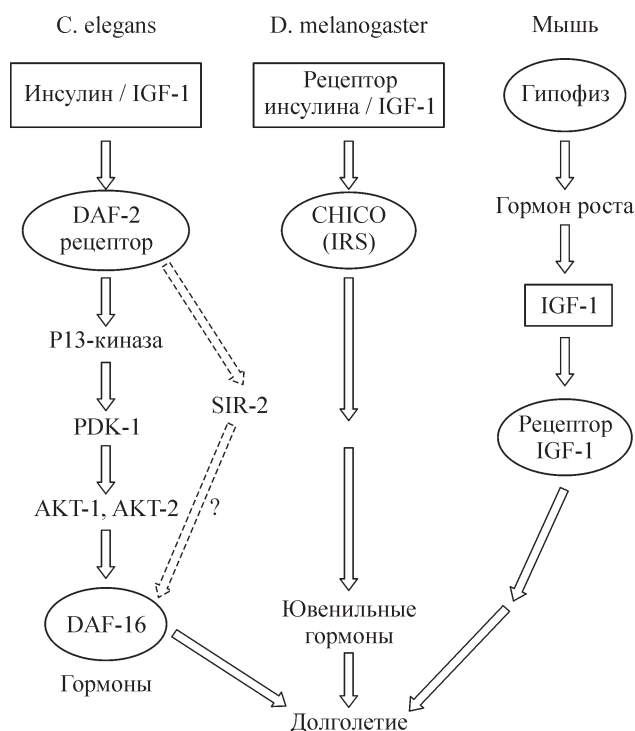


Рис. 3.4. Схемы передачи сигнала инсулина у нематоды, плодовых мух и млекопитающих.

жизни на 33 % по сравнению с самками дикого типа ( $p < 0.001$ ), тогда как у самцов — лишь на 16 %. У этих мышей не наблюдалось карликовости, основной обмен, температура тела, потребление корма, физическая активность и фертильность у них не отличались от контроля. Отмечена большая устойчивость этих мышей к окислительному стрессу по сравнению с контролем (*Igf1r<sup>+/+</sup>*) (Holzenberger et al., 2003).

На рис. 3.4 представлены схемы эволюционно консервативных систем передачи сигнала инсулина у нематоды, плодовых мух и млекопитающих.

Гены семейства сиртуинов (SIRTUIN — silence information regulators — регуляторы замалчивания информации). Один из генов этого семейства *Sir2*, открытый в 2001 г. у дрожжей, оказался непосредственно вовлеченным в регуляцию процессов старения у разных организмов (дрожжи, аскариды, дрозофила и мыши). Гены этого семейства активируются под влиянием дефицита калорий в организме, а также под действием других стрессорных факторов. Его непосредственным индуктором оказался никотинамид динуклеотид (НАД) — продукт окисления НАД-Н<sup>+</sup>. Идентифицировано 7 гомологов *Sir2* у млекопитающих (SIRT1—SIRT7). Белки, кодируемые генами SIRT, стимулируют выработку различных сигнальных молекул, включая инсулин и IGF-1, повышают стабильность ДНК путем скручивания двойной спирали, активируют репаративные и защитные механизмы клет-

ки, повышают скорость энергообмена и устойчивость к окислительному стрессу, угнетают функции апоптозных генов, координируют реакцию на стресс клетки и организма в целом.

Координирующие эффекты генов этого семейства реализуются через белковые продукты других регуляторных генов, таких как *P53*, *FOXO*, *Ku70*, *MYOD*, *NCoR*, через гистоны H3, H4 и H1 и гены, регулирующие ацетилирование гистонов P300 (Blander, Guarente, 2004; Guarente, Picard, 2005; Yang et al., 2006). Результатом экспрессии генов SIRT является увеличение продолжительности жизни клеток и организма в целом. SIRT6, связанный с хроматином ядерный белок, увеличивает резистентность ДНК к повреждению и подавляет геномную нестабильность в мышечных клетках, активно участвует в эксцизионной репарации оснований ДНК.

У мышей SIRT6<sup>-/-</sup> с выключенным одним из сиртуиновых генов, SIRT6, наблюдалось очень раннее (в возрасте 2—3 недель) появление признаков ускоренного старения (замедление роста, потеря подкожного жира, кахексия, развитие лордокифоза и выраженной лимфопении, метаболические дефекты, включая гипогликемию и дефицит IGF-1, при нормальном уровне гормона роста) и ранняя смерть до достижения возраста 4 недель (Mostoslavsky et al., 2006). Предполагается, что одной из функций SIRT6 является поддержание нормальной репарации ДНК, тогда как выключение этого гена приводит к развитию множественных нарушений, весьма напоминающих ассоциированные с возрастом дегенеративные процессы. Клетки, дефицитные по SIRT6, чрезвычайно чувствительны к действию АФК, индуцируемых ионизирующей радиацией или H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, а также алкилирующими агентами, но не ультрафиолетовым облучением, что подтверждает роль этого гена в регуляции эксцизионной репарации оснований ДНК (Mostoslavsky et al., 2006). Существуют убедительные подтверждения того, что у млекопитающих онкосупрессорный белок p53 является мишенью для деацетилирования белком Sirt1 (Cheng et al., 2003).

Мутация адапторного гена, кодирующего белок p66<sup>shc</sup> у мышей, привела к развитию устойчивости к вызванному паракватом окислительному стрессу, индуцирующему продукцию анионов супероксида, и увеличению продолжительности жизни животных на 30 % (Migliaccio et al., 1999). Этот ген, кодирующий белок p66<sup>shc</sup>, фосфорилируется по тирозину в ответ на активацию рецепторов фактора роста и образует стабильные комплексы с Grb2-адапторным белком для *ras*-зависимого SOS-фактора. Белок p66<sup>shc</sup> представляет собой вариант соединенных белков p52<sup>shc</sup> и p46<sup>shc</sup> и является цитоплазматическим сигнальным трансдуктором в процессе передачи митогенных сигналов от активированных рецепторов к *Ras*. Предполагается, что p66<sup>shc</sup> вовлечен в феноптоз, то есть запрограммированную гибель организма, обусловленную массовым апоптозом в жизненно важных органах в результате воздействия активных форм кислорода (Skulachev, 2000).

Трансгенные мыши с встроенным геном  $\alpha$ -MUPA, который индуцирует в головном мозге продукцию мРНК, кодирующую урокиназу активатора



**Таблица 3.6**  
**Генетические модификации,**  
**увеличивающие продолжительность жизни мышей**

Мутация, ген	Продукт гена, функция	Тип мутации	Изменение продолжительности жизни	Авторы
<i>Prop-1</i>	Гипофизарно-специфичный транскрипционный фактор	Аутосомально-рецессивный	+65 % (самки) +50 % (самцы)	Brown-Borg et al., 1996
<i>Pit-1</i>	Гипофизарно-специфичный транскрипционный фактор 1	То же	+45 %	Flurkey et al., 2002
<i>Grh<sup>-/-</sup></i>	Рецептор гормона роста	Нокаут	+25 %	Coschigano et al., 2000
<i>Igf1r<sup>+/-</sup></i>	Рецептор IGF-1	Частичный нокаут	+33 % (самки) +16 % (самцы)	Holzenberger et al., 2003
<i>FIRKO</i>	Рецептор инсулина в адипоцитах	Нокаут	+16 %	Blucher et al., 2003
<i>p66<sup>shc-/-</sup></i>	Адапторный белок окислительного стресса	»	+30 %	Migliaccio et al., 1999
<i>Trd</i>	Тиоредоксин; восстанавливает окисленные группы в белке	Суперэкспрессия	+30 %	Mitsui et al., 2002
<i>MGTM</i>	Метилгуанин-метилтрансфераза; репарация ДНК, алкилированной по O <sup>6</sup> -гуанину	»	Увеличивает выживаемость	Qin et al., 2000
<i>α-MUPA</i>	Активатор плазминогена	»	+20 %	Miskin et al., 1999

плазминогена, потребляют на 20 % меньше корма и живут на 20 % дольше мышей дикого типа. Эти мыши имели значительно сниженную температуру тела и уменьшение уровня кортикостерона в плазме в старческом возрасте (Miskin et al., 1999).

Таким образом, у мышей, так же как у нематод и дрозофил, выявлено достаточно большое число генов, которые ассоциированы с долголетием (табл. 3.6).

Современная технология генетического анализа транскриптома с помощью микрочипов (Affimetrix array) была использована для идентификации генов долголетия в когорте, содержащей 22 сублинии линии мышей BXD, существенно (более чем в 2 раза) различавшихся по продолжительности жизни (de Naan, Williams, 2005). Было исследовано 12 422 клон в стволовых клетках гематопозитической системы и головного мозга, и определены 10 генов, экспрессия которых наиболее сильно коррелировала с продолжительностью жизни в этих линиях. Авторы обнаружили в обоих типах исследованных клеток 2 гена, принадлежащие к семейству глутати-

Таблица 3.7

Транскрипты, коррелирующие с долголетием у 22 линий мышей BXD  
(Haan, Williams, 2005, с изменениями)

№	Символ	Транскрипт	Хромо-сома	Корреляция	P
<b>Гематопозитические стволовые клетки</b>					
1	Gstm6	Глутатион-S-трансфераза, муб	3	0.826	6.15e—07
2	Fgd3	Гомолог 3 фациогенитальной дисплазии	13	0.7883	5.99e—06
3	Urod	Декарбоксилаза уропорфирина	4	0.7831	7.85e—06
4	Sgnel	Секреторные гранулы нейротропина 1, белок 7B2	2	0.7623	2.14e—05
5	Ube2s	Убиквитин-конъюгирующий фермент E2S	7	0.7597	2.40e—05
6	Ids	Идуронидаза 2 сульфатаза	20	0.7532	3.19e—05
7	Gc	Группо-специфический компонент	5	0.7442	4.67e—05
8	Gas5	Специфический ингибитор роста 5	1	-0.736g4	6.37e—05
9	Ddx27	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box полипептид 27	2	-0.7351	6.70e—05
10	Pnrc1	Богатый пролином ядерного рецептора ко-активатор 1	4	-0.7325	7.41e—05
<b>Головной мозг</b>					
1	Hcn1	Гиперполяризацией активированный циклический калиевый нуклеотид (Bcng1)	13	-0.6260	0.00182
2	Hnrpl	Гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин L	7	0.6234	0.00194
3	Gsta3	Глутатион-S-трансфераза, альфа 21	1	-0.6130	0.00246
4	EST1B	Est1p-подобный белок B	3	0.6039	0.00301
5	Gbp3	Гуанилат связывающий белок 2, индуцируемый интерфероном	3	-0.6000	0.00327
6	Eif2b5	Эукариотический инициатор фактор трансляции 2B, субъединица 5 эпсилон	16	0.5961	0.00356
7	ApoC1	Аполипопротеин C1	7	0.5935	0.00376
8	4933416E03Rik	Ген RIKEN cDNA 4933416E03	2	-0.5896	0.00407
9	1600023A02Rik	Ген RIKEN cDNA 1600023A02Rik	2	0.5870	0.00429
10	Npy1r	Рецептор нейропептида Y, YqE	8	-0.5805	0.00489

он-S-трансферазы (*Gstm6* и *Gsta3*), которые хорошо коррелировали с долголетием мышей, что, по их мнению, поддерживает гипотезу о роли антиоксидантных систем (в частности, глутатион-S-трансферазы), в процессах анитстарения (табл. 3.7).

### 3.7. ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ ГЕНЫ СМЕРТИ И ДОЛГОЛЕТИЯ ЧЕЛОВЕКА

Как сумел ты так долго прожить, борода?  
Как ты дожил до этих лет?

Льюис Кэрролл. Алиса в Зазеркалье

В течение последних лет ведется интенсивный поиск кандидатов на роль генов смерти и долголетия у человека (табл. 3.8). Schachter et al. (1994) предложили следующую классификацию таких генов: 1) гены, гомологичные генам, определяющим долгожительство у животных других видов; 2) гены, участвующие в поддержании клеточного равновесия тканей и репарации; 3) гены, ответственные за развитие основных заболеваний, связанных со старением.

Таблица 3.8

Гены, полиморфизм которых был исследован в связи с ассоциацией с долголетием (De Benedictis et al., 2001; Salvioli et al., 2006; Глотов, Баранов, 2007, с дополнениями)

Ген	Полиморфизм (аллель)	Ассоциированное заболевание	Ассоциация с долголетием
<b>Метаболизм липидов</b>			
<i>APOE</i>	E2, E3, E4	БА,* ССЗ	+/-
<i>APOB</i>	3'APOB-VNTR	Коронарная артериальная гипертензия	+/-
<i>APOCIII</i>	SstI (C)	ИНСД	+
<i>APOA-I</i>	MspI (муж.)	ССЗ	+
<i>APOA-IV</i>	HincII	ССЗ	+
<i>CETP</i>	I405V	ССЗ	+/-
<b>Передача сигнала инсулина, метаболизм углеводов</b>			
<i>APOCIII</i>	T-455 C	СД-2	+
<i>IGF-1R</i>	G/A	СД-2, метаболический синдром	+
<i>IGF-1</i>	CA повторы	То же	+
<i>TH-INS-FokI</i>		СД-2	-
<i>PI3KCB</i>	T-C 359 pb	СД-2	+
<i>YTHDF2</i>		СД-2	+
<b>Энергетический обмен</b>			
<i>Klotho</i>	G-395A, C1818T	Атеросклероз, остеопения	+
<i>SIRT3</i>	G477T (муж.) VNTR (муж.)	Нарушение обмена веществ	+
<i>mtDNA</i>	Гаплотип J (муж.) C150E	Митохондриальные болезни, ИНСД, КАБ, болезнь Паркинсона? БА?	+
<i>PPARγ</i>	Pro/Ala	Ожирение	+

Таблица 3.8 (продолжение)

Ген	Полиморфизм (аллель)	Ассоциированное заболевание	Ассоциация с долголетием
<b>Ренин-ангиотензиновая система</b>			
<i>REN</i>	10 аллель	ЭГ, ССЗ	+
<i>ACE</i>	I/D	ИМ, БА, ИНСД, ИБС, инсульт	+/-
<i>AGT</i>	T235	ЭГ, ССЗ	+
<b>Обмен гомоцистеина</b>			
<i>MTHFR</i>	C/T	Метилирование гомоцистеина	+/-
<b>Свертывание крови</b>			
<i>Фактор VII</i>	R/Q353, -323ins10	ИМ, тромбоэмболия	-
<i>PAI1</i>	4G/5G	То же	+/-
<i>Фибриноген</i>	-455G/A	Коронарная артериальная гипертензия	-
<i>Протромбин</i>	20210G/A	ИМ	-
<i>GP1IIa</i>	A1/A2	ССЗ	-
<i>GP2b3a</i>		ССЗ	-
<i>TPA</i>	Intron 8 ins311	ИМ? Инсульт	-
<i>CRP</i>	-1059G/C	ССЗ	-/+
<b>Антиоксидантная защита</b>			
<i>SOD2</i>	T/C 401	?	-
<i>PON1 (на- ра-оксоназа 1)</i>	Arg192, M55	ССЗ	+
<i>HSP70 A1A</i>	T247 C	Снижение устойчивости к стрессу	+
<i>HSP70 A1B</i>	A1267G		+
<i>HS PA1L</i>	-110A C		+
<b>Гены «внешней среды», метаболизм ксенобиотиков</b>			
<i>CYP 1A1</i>	T461N, 3801T > C	Рак, лейкозы	+
<i>CYP1B1</i>	432L	Рак, гормональные нарушения	+
<i>CYP2D6</i>	3(A4637 del) 4(G1934Atrans)	Болезнь Паркинсона, рак	+/-
<i>GSTM1</i>	0/0	Рак, бронхиальная астма, привычное невынашивание	+/-
<i>GSTT1</i>	0/0	То же	+
<i>NAT2</i>	C481T, G590A, G857A, G191A	Рак, эндометриоз	+/-
<b>Гены-онкосупрессоры</b>			
<i>P53</i>	Arg72Pro	Рак, апоптоз	+/-
<i>CLU/Apo J</i>		Рак, апоптоз, клеточный гомеостаз	+

Таблица 3.8 (продолжение)

Ген	Полиморфизм (аллель)	Ассоциированное заболевание	Ассоциация с долголетием
<b>Гены аутоиммунных заболеваний</b>			
HLA класс I и класс II	HLA-DR11, HLA-B8, HLA-DR3, HLA-DR5, HLA-B40	Иммунные нарушения	+/-
<i>IL-6</i>	-174C/T (муж.)	Иммунные нарушения, остеопороз, ССЗ	+
<i>IL-10</i>	-1082GG (муж.) T-819C, A-592C	Иммунные нарушения	+
<i>TNF<math>\alpha</math></i>	-238G/G	Иммунные нарушения, ИНСД	+
<i>TGF-<math>\beta</math>1</i>	G915C	ИНСД, атеросклероз	
<i>IFN<math>\gamma</math></i>	+874T → A (жен.)	То же	+
TLR-4	Asp299Gly	Врожденный иммунодефицит	+
<b>Прочие гены</b>			
<i>SIRT1</i>		Воспаление, сопровождающее артриты и артрозы, астму, ССЗ, нейродегенеративные заболевания	+
<i>PARP-1</i>	(gt)n	Инсульт, апоптоз	-
ТН (тирозин гидроксилаза)		?	+

Примечание. (+) — положительная ассоциация; (-) — отсутствие ассоциации. \* — БА — болезнь Альцгеймера; ИМ — инфаркт миокарда; ЭГ — эссенциальная гипертензия; ИНСД — инсулиннезависимый сахарный диабет; СД-2 — сахарный диабет 2 типа; ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания; КАБ — коронарных артерий болезнь; КСБ — коронарно-сердечная болезнь.

В настоящее время принято считать, что только один ген аполипопротеина Е (АпоЕ) имеет существенное значение для долгожительства человека. У столетних выявлено отчетливое преобладание аллеля АпоЕ Е2 над аллелем Е4 (Schachter et al., 1994). Преобладание аллеля Е4, напротив, предрасполагает к гиперхолестеринемии, коронарной болезни сердца и болезни Альцгеймера (но не к раку или диабету). У лиц старше 90 лет риск болезни Альцгеймера, связанный с АпоЕ Е4 достигает плато. Более того, некоторые столетние с полиморфизмом Е4/Е4 полностью сохранены ментально, и неизвестно, определяется ли это защитным эффектом какого-либо гена или просто случайностью (Finch, Ruvkun, 2001). Полагают, что АпоЕ должен рассматриваться скорее как ген «хилости» (frailty), а не ген долголетия (Gerdes et al., 2000). На роль генов, определяющих долголетие (или «хилость»), могут претендовать и гены, определяющие МНС гаплотип, гены метиленотетрафолат редуктазы (MTHFR), липоксигеназы (ALOX), PON-пароксоназы, и ангиотензин-превращающего фермента (ACE) (Баранов, Баранова, 2007).

Было установлено, что ген *bcl-2* кодирует белки мембраны митохондрий, и в тех клетках, где он экспрессируется, его функция проявляется в фенотипе бессмертия (Hockenbery et al., 1990). Однако в отличие от всех других онкогенов он не вызывал клеточной пролиферации. Вместо этого клетки находились в состоянии персистенции, даже находясь под влиянием гормонов. Показано, что ген *bcl-2* блокирует программируемую клеточную смерть в клетках, что продлевает их жизнь. Было также обнаружено, что продукт гена *bcl-2* препятствует токсическому эффекту гидроксильных радикалов, защищая стареющие клетки от оксидативного стресса (Adams, Cory, 1998).

В опытах с *bcl-2* и подобными ему генами на нематодах было показано, что они предотвращают цепную реакцию перекисного окисления липидов, которая происходит в мембранах, и этим защищают клетки от повреждения свободными радикалами. Поскольку ген *bcl-2* является частью клеточной системы противодействия апоптозу, то в настоящее время исследуются пути использования *bcl-2* как лечебного средства в терапии нейродегенеративных заболеваний.

Ген белка *p53* также является чрезвычайно важным как для контроля эволюции раковых клеток, ограничивая их бесконтрольный рост и даже вызывая регрессию опухолей, так и для клеточного старения, выполняя функцию удаления старых, нефункционирующих клеток. Белок *p53* ведет себя как антионкоген: его введение в трансформированные клетки подавляет их неконтролируемую пролиферацию. Было установлено, что если нормальный *p53* участвует в контроле тканевого роста за счет активации генов, вовлеченных в подавление роста, его мутантные формы могут препятствовать этому процессу и инициировать образование опухолей. Мутации гена *p53* являются наиболее распространенными мутациями в клетках опухолей человека и были найдены в опухолях различной локализации (Rodin, Rodin, 1998).

Были получены данные, что локус *klotho* ассоциирован с выживаемостью человека, определяемой как постнатальная ожидаемая продолжительность жизни, и также ассоциирован с долголетием, определяемым как ожидаемая продолжительность жизни после возраста 75 лет (Arking et al., 2002).

Как уже отмечалось выше, сиртуиновый ген *SIR2/sirt1* оказывает влияние на продолжительность жизни многих модельных организмов, включая дрожжи, нематоду *C. elegans* и мышей. При исследовании первичной культуры фибробластов слизистой полости рта человека, полученных от доноров разного возраста, было установлено, что деацетилазы гистонов HDAC1 и HSIR2 тормозят клеточное старение, причем, их эффект опосредован транскрипционной инактивацией промоторов генов *p53* и *p21* (Kim et al., 2004). F. Flashbart и соавт. (2006) исследовали ассоциацию вариантов гомолога гена *SIRT1* с долголетием у человека. Были изучены 5 одиночных нуклеотидных полиморфизмов (SNPs), распределенных по всему гену, включая промоторный регион, в банке из 1773 образцов ДНК от долгожителей (90- и

100-летних) и в соответствующей контрольной группе образцов ДНК молодых людей. Анализ результатов показал, что у представителей немецкой популяции никакой ассоциации долголетия с любым из SNPs полиморфизмов не наблюдается. Исследования другого гомолога гена *SIR2* у человека — *SIRT3*, кодирующего митохондриальный белок, показали, что только у мужчин имеется ассоциация между этим сиртуином и долголетием в итальянской популяции (Rose et al., 2003). Эти наблюдения свидетельствуют о том, что вариации в самом *SIRT3* или в гене, который тесно с ним связан, могут модулировать ожидаемую продолжительность жизни у людей (Rose et al., 2003).

Гены аполипротеина Е (АпоЕ) и ангиотензин-превращающего фермента (АСЕ) играют важную роль в липидном метаболизме, а поскольку сердечно-сосудистые заболевания являются главной причиной смерти человека, то они непосредственно влияют на продолжительность жизни. Белки АпоЕ участвуют в создании, секреции, транспорте и связывании макромолекулярных липопротеидных комплексов. Они являются компонентами ТГ-богатых липопротеинов и ЛПВП плазмы. АСЕ является ключевым ферментом ренин-ангиотензиновой системы, важной в контроле болезни Альцгеймера, гомеостазе воды и соли, и контроле клеточного роста. Три обычные изоформы АпоЕ: Е2, Е3, Е4 кодируются соответственно генами  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  и  $\epsilon 4$ . В то время как изоформа Е4 ассоциирована с высоким уровнем холестерина в крови и связана с повышенным риском ишемической болезни сердца (ИБС), относительно редкая изоформа Е2 связана с менее высоким уровнем холестерина крови. Высокая частота  $\epsilon 2$  аллелей у столетних (Schachter et al., 1994) предполагает, что  $\epsilon 2$  может оказывать защитное влияние в виде снижения уровня холестерина, что вторично влияет на заболеваемость ИБС. Это, впрочем, не единственное объяснение: АпоЕ и, в частности, его вариант АпоЕ4 вовлечены в патогенез болезни Альцгеймера. Белок АпоЕ4 ненормально связывается с некоторыми внутриклеточными белками, что приводит к их агрегации и формированию внутриклеточных нейрофибриллярных пучков, он также связывается с внеклеточным  $\beta$ -амилоидным белком (Schachter et al., 1994). Предполагается, что болезнь Альцгеймера развивается, поскольку АпоЕ4 вариант вреден для нейронов, лишая их нормальной защиты от нейродегенерации. Показано, что у носителей двух Е4 аллелей болезнь Альцгеймера развивается в среднем на 15 лет раньше, чем у носителей двух Е3 аллелей. Тем не менее у столетних с полиморфизмом  $\epsilon 4/\epsilon 4$  деменции не наблюдалось. Возможно, что АпоЕ4 связывается с другими внутри- и внеклеточными компонентами, что может играть роль в развитии ИБС (Finch, Tanzi, 1997).

При анализе полиморфизма генов АпоА1, АпоС3 и АпоА4 в группе 800 индивидуумов в возрасте от 18 до 109 лет было установлено, что частота аллеля гена АпоА1, коррелирующего с увеличением уровня липидов низкой плотности и холестерина у 46—80-летних мужчин, была существенно повышена у столетних, являя собой еще один «генетический парадокс» долгожителей (Garasto et al., 2003).

Установлено, что ограничение калорийности питания практически всех биологических объектов сопровождается увеличением продолжительности жизни (Wendruch, Walford, 1988; Roth et al., 1999). Ключевым биологическим параметром при этом является низкий уровень инсулина и IGF-1. Логично предположить, что генетически детерминированные изменения в геноме, приводящие к эффектам ограничения калорийности питания, могут реализоваться увеличением индивидуальной продолжительности жизни. У нематод и плодовых мушек были выявлены мутационные изменения генов в системе передачи сигнала от инсулинового рецептора к транскрипционному фактору *daf-16*, которые ассоциированы с существенным увеличением продолжительности жизни. Все описанные мутации (*age-1*, *daf-2*, *CHICO*, *InR* и др.) находятся в генах, предшествующих *daf-16* в инсулиновом каскаде. Ген *daf-16* является транскрипционным фактором и оказывает свое действие, связываясь в промоторных областях генов, регулируемых инсулином (*insulin-response elements*, IRE). Однако неизвестно, какова продолжительность жизни организмов, имеющих мутации в участках IRE разных генов.

В исследованиях, выполненных группой исследователей из Института ядерной физики РАН, Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН и Санкт-Петербургского городского гериатрического центра, проанализировано возрастное распределение частот аллелей АпоС-III, один из которых располагается в 5'-нетранслируемой области этого гена (Т-455С) в пределах функционального участка связывания инсулина, в группе из 137 престарелых жителей Санкт-Петербурга (возраст 70—106 лет) и контрольной группе из 110 школьников (возраст 6—17 лет) (Anisimov S. et al., 2001). Было установлено, что частота мутационного события в IRE гена АпоС-III человека строго положительно коррелирует с продолжительностью жизни. Таким образом, впервые представлены доказательства, что мутация в системе передачи сигнала инсулина, находящаяся ниже гена *daf-16*, непосредственно связана с долголетием (Schwartz et al., 2000). В этой связи представляется очень важным оценить структурную организацию (полиморфизм) IRE других генов, регулируемых инсулином, и их вклад в долголетие. В работе, выполненной недавно итальянскими исследователями (Bonafe et al., 2003), было показано, что лица с полиморфизмом G/A гена рецептора IGF-1 (IGF-1R) имеют сниженный уровень IGF-1 в плазме крови и чаще встречаются среди долгожителей.

Проведенный анализ аллельного полиморфизма генов, контролирующих различные компоненты системы передачи сигнала инсулина (*GHRHR*, *GHI*, *IGF1*, *INS*, *IRS1*) в двух больших когортах мужчин и женщин старше 85 лет, наблюдающихся в рамках Лейденского проекта 85+, показал, что у женщин-носителей аллеля *GHI* SNP в среднем на 2 см меньше рост и на 20 % снижен риск смерти по сравнению с носительницами аллеля дикого типа (van Heemst et al., 2005). У мужчин эта закономерность не прослеживалась.

В исследовании полиморфных аллелей 19 генов у 436 пациентов разного возраста, проходивших профилактический терапевтический осмотр, не было выявлено достоверных возрастных изменений в частотах аллелей ге-



нов АпоЕ, PON1, AGT и LMYC1, хотя для гена АпоЕ была отмечена тенденция нарастания с возрастом частоты аллеля E3 и исчезновение после 60 лет редких генотипических классов (E2/E2, E4/E4 и E2/E4) (Хавинсон и др., 2002). Авторами установлено, что после 60 лет достоверно снижаются частоты редких аллелей генов АпоС-III и LPA, а также частота генотипического класса 1/1 гена ACE, достигающая достоверных значений после 70 лет. В период от 45 до 60 лет уменьшаются частоты нулевых гомозигот гена GSTM1 и носителей мутантных аллелей генов MTHFR и DRD. Однако в возрасте старше 60 лет подобных изменений этих трех генов не наблюдалось. С возрастом достоверно понижается частота гетерозигот 4G/5G гена PAI1 и увеличивается доля гомозигот 4G/4G, а также возрастают частоты мутантных аллелей в генах F2, F5 и P53. В целом в этой работе найдены значительные возрастные различия в распределении 10 генов (табл. 3.9).

На основании полученных результатов авторы полагают, что носители редких аллелей генов АпоIII и LPA имеют меньшую продолжительность жизни по сравнению с гомозиготами по частым аллелям этих генов, причем эти различия выявляются только по достижении ими возраста 60 лет. В этот же период подвергаются давлению отрицательного отбора I/I гомозиготы по гену ACE, что особенно заметно после 70 лет. Гомозиготы по гену GSTM1 и носители мутантных аллелей генов MTHFR и DRD имеют больший риск смерти в возрасте 45—60 лет, тогда как у лиц, переживших этот возраст, носительство этих же аллелей не сказывается сколько-нибудь существенно на продолжительности жизни. Гомозиготность D/D по гену ACE, ассоциированному с гипертрофией левого желудочка сердца и ишемической болезнью сердца, не оказывает существенного влияния на продолжительность жизни. Частота аллелей генов F2, F5 и PAI1, ассоциированных с активацией свертывающей системы крови и торможением фибринолиза, оказалась повышенной в самой старшей возрастной группе.

Проанализировав данные генетических лонгитудинальных исследований 681 датского близнеца, L. Christiansen и соавт. (2006) установили, что носительство двух копий гена GSTM1 (кодирующего глутатион S-трансферазу, защищающую от канцерогенов и других ксенобиотиков), уменьшает риск смерти, тогда как гетерозиготность или делеция одной или двух аллелей — увеличивает смертность у женщин.

Исследование распределения мутации G-A в гене фактора V свертывания крови (Arg506Gln), определяющей резистентность активированного белка C (APC) и риск развития венозной тромбоэмболии, показало существенные различия в распределении мутантного аллеля в группе лиц с «поздними» и «ранними» инфарктами миокарда среди пожилых лиц (средний возраст 80 лет) и в контрольной группе молодых людей (Baranovskaya et al., 1998). Средний возраст пациентов, перенесших инфаркт и имевших Лейденскую мутацию, составил 72 года, что на 12 лет было больше, чем средний возраст всех пациентов с инфарктами миокарда. Частота обнаружения гена фактора Виллебранда, который является хорошо известным предиктором атеротромботической болезни, была парадоксально существенно по-

Таблица 3.9

Изменения частот полиморфных аллелей в различных возрастных группах  
российской популяции (Хавинсон и др., 2002)

Белок	Ген, локализация	Полиморфизм	Аллель		Изменение частоты алле- лей с возрас- том*
			частый	редкий	
Аполипопротеин СIII	APOCIII 11q23	C5163G	S1	S2	S1/S2↓
Аполипопротеин А	LPA 6q26-q27	C+93T	C	T	C/T↓
Аполипопротеин Е	APOE 19q	C112R, R158C	E3	E2, E4	Не изменя- ется
Параоксоназа	PON1 7q21-q22	Q192R	A	B	То же
Ангиотензин-превращающий фермент	ACE 17q23	I/D в интроне 16	D	I	I/I ↓
Ангиотензиноген II 1 типа	AGT 1q42q43	M235T, G-61	T G	C A	Не изменя- ется
Фактор свертывания крови V	F5 1q23	R506Q	N	L	N/L↑
Фактор свертывания крови VII	F7 13q34	-323ins 10, R353Q	A1, M1	A1, M2	Не изменя- ется
Фактор свертывания крови II — про- тромбин	F2 11p11-q12	G20210A	N	M	N/M↑
Ингибитор активатора плазминогена	PAI1 7q22.1-q22.3	4G/5G в позиции — 675	4G	5G	4G/4G↑ 4G/5G↓ 5G/5G↑
Метилентетрагидро- фолат-редуктаза	MTHFR 1p36.3	C677T	C	T	N/N↑ N/M↓
Глутатион-S-трансфе- раза μ-1	GSTM1 1p13	Del/Del	Del	N	Del/N↓ N/N+N/Del↑
Протоонкоген L-MYC	MYCL1 1p32	EcoR1 — по- лиморфизм в интроне 2	EcoR1- (L)	EcoR1+ (S)	Не изменя- ется
Супрессор опухолей p53	P53 17p13.105- p12	6-Msp1 — по- лиморфизм в интроне 6 16-16 н. инсер- ционный по- лиморфизм в интроне 3 72 — Arg/Pro полиморфизм в экзоне 4	Msp1+ (S)  119 (A)  BstU1+ (S)	Msp1- (L)  135 (B)  BstU1- (L)	S/S ↓ S/L ↑  L/L ↑  L/L ↑

Таблица 3.9 (продолжение)

Белок	Ген, локализация	Полиморфизм	Аллель		Изменение частоты аллелей с возрастом*
			частый	редкий	
Рецептор дофамина	DRD	2A-Тaq 1 — полиморфизм	Тaq1+ (S)	Тaq1- (L)	S/S↑ S/L↓
		2B-Тaq 1 — полиморфизм	Тaq1+ (S)	Тaq1- (L)	S/S↑ S/L↓

Примечание. \* — приведены только статистически существенные изменения.

вышена у 100-летних жителей Италии по сравнению с 45—55-летними (Coppola et al., 2003).

У 159 пациентов с ИБС в возрасте от 35 до 87 лет был исследован полиморфизм гена ACE. Контролем служили здоровые доноры (66 чел.) (Малыгина и др., 1999). Обнаружено существенное увеличение частоты генотипа DD и аллеля D и снижение частоты генотипа II и аллеля I у больных ИБС по сравнению с контролем. Авторы полагают, что генотип DD гена ACE обуславливает предрасположенность к ИБС и является фактором риска для развития инфаркта при ИБС.

Установлено, что мутации в гене  $\alpha$ -синуклеина, которому отводится важная роль в генезе аутосомально-доминантной формы болезни Паркинсона, не играют патогенетической роли в популяции россиян, в отличие от европейских и американских популяций (Illarioshkin et al., 2000).

Изучение распределения аллелей онкогена L-MYC у здоровых доноров среднего и пожилого возраста, а также больных раком различной локализации, показало, что соотношение аллелей L и S у доноров в разных возрастных группах было одинаковым, однако у пожилых курильщиков отмечалась тенденция к повышению встречаемости аллеля S, что может указывать на ассоциацию между этим аллелем и устойчивым к курению генотипом (Того и др., 1999).

Полигенная система главного комплекса гистосовместимости (HLA у человека и MHC у мышей) может играть важную роль среди генетических факторов долгожительства. Показано, что мыши с аллелем  $H-2^d$  живут дольше, у них выше активность иммунной системы и меньше частота спонтанных лимфом. Хотя у столетних европейцев в два раза чаще встречаются некоторые аллели, например *HLA-A,-C* и *DR*, эти наблюдения не подтвердились при исследовании 100-летних жителей Сардинии и пока отсутствуют подтверждения этой связи для других популяций (Finch, Ruvkun, 2001; Lio et al., 2003).

В целом результаты исследования кандидатных генов долгожительства человека (табл. 3.8 и 3.9) довольно противоречивы. В значительной мере

эти противоречия могут быть обусловлены гетерогенностью популяции и проблемами адекватного отбора лиц как для обследуемой группы, так и контроля (de Benedictis et al., 2001). Многие столетние имеют различные инвалидизирующие заболевания, отсутствуют унифицированные критерии оценки здоровья или отсутствия болезней. Существенные изменения в частоте и распространенности многих заболеваний, наблюдавшиеся на протяжении минувшего века, могут существенно модифицировать смертность в когортах людей, родившихся в разные годы, поэтому реальным контролем должны служить лица из той же когорты, но умершие раньше долгожителей. В этой связи представляется весьма перспективным развиваемый в последние годы генетически-демографический подход, комбинирующий демографическую информацию с данными о генетических маркерах (Yashin et al., 1999, 2000). В любом случае есть основания полагать, что влияние одного какого-либо гена на смертность в популяции является весьма слабым (Глотов, Баранов, 2007).

Несмотря на значимость упомянутых проблем, некоторые заключения все же можно сделать. Так, довольно убедительными выглядят данные об ассоциации долголетия с такими генами, как *AnoE*, *AnoB*, *AnoA-IV*, мтДНК. В особенности это касается *AnoE*, полиморфизм которого существенно модифицирует продолжительность жизни. Полагают, что аллель E4 надежно предсказывает уязвимость индивидуума (Gerdes et al., 2000). Отсутствие ассоциации с долголетием для маркеров, локализованных в генах P53 и PARP, также хорошо воспроизводимо (de Benedictis et al., 2001). Данные о полиморфизме генов, связанных с рядом тяжелых заболеваний (см. табл. 3.8), не позволяют выявить какую-либо ассоциацию с долголетием, либо приводят к парадоксальным выводам, как например в случае с высокой частотой генотипа D/D ACE или 4G/4G PAI-1 у столетних.

### 3.8. РОЛЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ В СТАРЕНИИ

Память человека — свиток, на котором  
Отмечены все даты бытия.

*Максимилиан Волошин*

Одним из подходов к изучению генетических детерминант старения стало исследование пролиферативной способности гибридных клеток. Большинство гибридов нормальных клеток человека, имеющих конечную продолжительность жизни, и бессмертных (опухолевых) клеток подвержены старению, что означает, что старение в них доминирует над способностью к бессмертию. В некоторых случаях гибриды двух бессмертных клеток получили ограниченную возможность пролиферации (Pereira-Smith, Smith, 1988). Это наблюдение поддерживает гипотезу о том, что хромосомная перестройка или потеря хромосом, которая может происходить во время гиб-

ридизации между двумя типами клеток, может проявляться в способности или неспособности клетки к непрерывному росту. Исследование гибридов нормальных человеческих диплоидных фибробластов и бессмертных раковых клеток сирийских хомячков (Sugawara et al., 1990) подтвердило, что некоторые гибриды являются бессмертными. Кариотипический анализ таких клонов показал, что в них обе копии человеческой 1-й хромосомы были утеряны. Введение хотя бы одной копии человеческой 1-й хромосомы в клетку методом внутриклеточной инфузии вызывало типичную картину клеточного старения, что не было показано ни для одной другой хромосомы. Эти эксперименты показывают, что клеточное старение является результатом генетической программы, с помощью которой специфические гены, локализованные на 1-й хромосоме, ограничивают клеточную пролиферацию. Значение имеет то, что гены, определяющие старение, не распределены случайно по всем хромосомам. В настоящее время проводится интенсивная работа по идентификации и локализации таких генов. Т. Reed и соавт. (2004) исследовали особенности генома у 95 пар мужчин-близнецов старше 70 лет, у которых не было серьезных сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета, инфарктов и инсультов, а также рака предстательной железы. Были идентифицированы 6 участков хромосом, в которых логарифм конкордантности был более 1.2 ( $p < 0.01$ ). Область хромосомы 4, соответствующая маркеру D4S11564, имела этот показатель конкордантности 1.67. Ранее этот маркер был идентифицирован как аутосомальный доминантный признак в семьях столетних. Авторы полагают, что ими получены доказательства тому, что этот локус на длинном плече хромосомы 4 ассоциирован с более благоприятным физическим старением и/или долголетием.

### 3.9. ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТРАНСКРИПТОМА ПРИ СТАРЕНИИ

Я скажу это начерно, шепотом,  
Потому что еще не пора:  
Достигается потом и опытом  
Безотчетного неба игра.

*Осип Манделштам*

Успехи в биотехнологии привели к разработке методов одновременного количественного определения относительной концентрации тысяч мРНК. Хотя экспрессия генов регулируется на нескольких уровнях, транскрипция является главной целью высокопроизводительного геномного анализа. Молекулярные методы анализа экспрессии на геномном уровне включают в себя секвенирование (определение нуклеотидной последовательности) экспрессированных секвенсных ярлыков (EST-секвенирование клонов кДНК, синтезированных из мРНК, представленной в клетке в момент анализа), субтрактивную гибридизацию (изоляция молекул мРНК/кДНК с помощью

стратегии на основе субтрактивной гибридизации, с последующей идентификацией тех из них, которые по-разному представлены в двух сравниваемых образцах), дифференциальный дисплей (основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР) метод идентификации мРНК, по-разному представленных в двух сравниваемых образцах), конкурентная ПЦР, кДНК или олигонуклеотидные микроарреи (микрочипы) (высокоплотные комплекты клонов кДНК или олигонуклеотидов, которые могут быть гибридизованы с мечеными пробами, синтезированными из тотальной мРНК образца), и серийный анализ генетической экспрессии (SAGE). Число транскриптов (молекул мРНК), которое может быть анализировано методами субтрактивной гибридизации, дифференциального дисплея или конкурентной ПЦР, является ограниченным, в то время как метод EST-секвенирования, позволяющий определить относительную частоту, с которой отдельные молекулы мРНК представлены в общем объеме мРНК в образце, требует чрезвычайно большого объема секвенирования, занимающего значительное время.

Два метода в настоящее время являются ведущими инструментами анализа экспрессии генов на геномном уровне. ДНК-микрочиповая технология (основанная на кДНК или олигонуклеотидах) позволяет получить количественную информацию о полном или близком к полному профиле транскрипции в исследуемых клетках (Young, 2000). С другой стороны, в то время как микрочиповая технология позволяет потенциально одномоментно анализировать уровни экспрессии значительного числа генов, природа метода позволяет изучение только уже предварительно идентифицированных экспрессированных секвенсов. Серийный анализ генетической экспрессии, таким образом, является единственной технологией, которая способна в настоящее время количественно охарактеризовать полный транскриптом, т. е. совокупность мРНК, которая уже была, и еще не была идентифицирована в данном типе клеток или ткани (Velculescu et al., 1999; Anisimov S., Boheler, 2003; Anisimov S., 2007).

Открытие микрочиповой технологии как нового направления в молекулярной биологии привело к значительному прогрессу в понимании изменения экспрессии генов в тканях в ходе жизнедеятельности, как важнейшего фактора адаптации их к стрессорным влияниям окружающей среды. Значительный прогресс в технических аспектах создания микрочипов и в первую очередь мембранных микрочипов, сопровождавшийся минимизацией размеров и повышением точности нанесения биологического материала, позволил в течение буквально нескольких лет перейти от микрочипов, содержащих лишь десятки и сотни точек нанесения, к микрочипам, содержащим десятки тысяч таких точек (Suzuki et al., 2002). Для изучения экспрессии генов наибольшее распространение получили мембранные ДНК-микрочипы, а именно олигонуклеотидные и основанные на кДНК. Использование олигонуклеотидных микрочипов, основанное на гибридизации образца с зафиксированными на мембранах синтезированными фрагментами ДНК (длиной от 20 до 50—60 пар оснований) позволяет добиться высокой точности и достоверности абсолютных значений гибридизации, но требует высоких

затрат на этапе синтеза ДНК, что ограничивает возможность использования таких микрочипов в крупномасштабных проектах. кДНК-микрочипы используют «библиотеки», т. е. коллекции бактериальных клонов, содержащие в виде инsertов участки кДНК длиной обычно от 0.5 до 2.5 тысячи нуклеотидов, удобных в хранении и обработке. Аликвоты очищенной кДНК из десятков тысяч подобных бактериальных клонов с помощью высокоточной робототехники могут быть нанесены и зафиксированы на мембране в определенной последовательности. Хотя абсолютная точность гибридизационного сигнала является меньшей, чем для олигонуклеотидных микрочипов (из-за неодинаковой длины гибридизуемых фрагментов кДНК и ряда других показателей), такие микрочипы наиболее удобны для крупномасштабного скрининга генов, отвечающих изменением своей экспрессии на внешнее воздействие, такое как применение лекарственного препарата, дифференциация, патология и старение.

Серийный анализ генетической экспрессии (SAGE) — это молекулярная техника, позволяющая одновременно количественно и качественно охарактеризовать экспрессию тысяч транскриптов (Velculescu et al., 1999). Два основных принципа лежат в основе серийного анализа генетической экспрессии. Во-первых, короткие нуклеотидные последовательности ДНК (ярлыки) достаточны для идентификации индивидуальных генных продуктов и, во-вторых, конкатемеризация таких ярлыков (связывание их друг с другом в одну последовательность) многократно увеличивает эффективность идентификации экспрессированной мРНК в секвенируемых библиотеках. Профиль транскрипции, генерированный с помощью SAGE, полагается для идентификации и клонирования генов на нуклеотидные последовательности длиной 10—14 пар оснований (SAGE-ярлыки). Теоретически ярлык длиной 14 пар оснований, состоящий из составляющих любую ДНК четырех видов нуклеотидных оснований (А, Ц, Г и Т), может определить  $4^{14}$  (268 435 456) разных транскриптов, что многократно превосходит число генов, предположительно содержащихся в геноме человека и млекопитающих (число которых, по разным оценкам, колеблется от 30 000—40 000 до 70 000—140 000), даже без наличия какой-либо предварительной информации об их нуклеотидном составе и экспрессии в изучаемом образце. Для создания несущего информацию о транскрипте ярлыка, поли(А) РНК (мРНК) изолируется и при помощи dT-прайма транскрибируется в двуниевую кДНК. Комбинация рестрикционных ферментов (якорного — фермент 1-го типа, и ярлыкового — фермент 2-го типа) позволяет вырезать из участка, соседнего с наиболее близким к поли(А) концу кДНК сайта рестрикции якорного фермента 14-нуклеотидный ярлык. Выделенные ярлыки конкатемерируются, формируя цепочки, содержащие значительное количество ярлыков, клонируются, и их нуклеотидная последовательность может быть определена секвенированием. Нуклеотидная последовательность ярлыков затем сравнивается с нуклеотидными последовательностями известных генов и экспрессированных секвенсных ярлыков, находящимися в специализированных базах данных (Velculescu et al., 1999; Anisimov S. et al., 2002).

Таблица 3.10

## Исследования влияния старения на профиль генного транскриптома у животных и человека (Welle, 2000, с дополнениями)

Вид	Ткань	Метод	Число исследованных транскриптов
Плодовая муха	Целиком	ВПО	8217
Мышь	Скелетная мышца	ВПО	6000
	Мозг	ВПО	6000
	»	ВПО	11000
	Печень	ВПО	11000
	»	кДНК	588
Карликовая мышь	»	кДНК	588
Макака-резус	Скелетная мышца	ВПО	7000
Человек	Фибробласты кожи in vitro	ВПО	6000
	Скелетная мышца	SAGE	20000

Примечание. ВПО — высокой плотности олигонуклеотидный анализ.

Несмотря на определенные сложности анализа полученных такими методами данных, связанных с различием эффектов собственно старения и методической и биологической вариабельностью, при изучении старения применяются два основных метода — серийный анализ генной экспрессии (SAGE) и ДНК микрочиповая технология (Welle, 2002; Anisimov S., Boheler, 2003). Число исследований с применением этих методов стремительно растет. В табл. 3.10 приведены сведения о некоторых последних исследованиях по сравнению транскриптомов у молодых и старых животных и человека.

Несмотря на то что изменения уровня мРНК обычно ассоциированы с изменениями в уровне кодируемых белков, экспрессия некоторых белков регулируется, скорее, на трансляционном, а не транскрипционном уровне. Даже в тех случаях, когда концентрация белка контролируется генной транскрипцией, избыточность мРНК может не отражать изменения в специфической активности белка, вызванные возрастными изменениями в регулируемых ими посттрансляционных модификациях (например, фосфорилировании), либо окислительными повреждениями (Welle, 2002). Полученные в опытах на мышах с помощью кДНК микрочиповой технологии данные свидетельствуют о том, что при старении имеет место активация адаптационного ответа на стресс, вызываемый увеличенным уровнем активных форм кислорода (АФК) (Weindruch et al., 2002). При изучении возрастной динамики экспрессии полного транскриптома нематоды было установлено, что увеличение активности генов *ins-2* и *ins-18* у старых нематод ответственно за снижение передачи сигнала инсулина и устойчивости к стрессу (Lund et al., 2002).



Используя Affymetrix Drosophila GeneChip 1.0, содержащий 14 028 проб, представляющих 12 762 гена, О.-Q. Lai и соавт. (2007) исследовали профиль транскриптома у двух линий дрозофил (Oregon и 2b) в возрасте 7 дней и в возрасте, когда были живы только 10 % наиболее долгоживущих особей. Было обнаружено, что среди 8217 проб, которые удалось определить при транскрибировании, существенно изменили свою экспрессию при старении 2371 проба, представляющая 2220 генов, а 839 проб различным образом экспрессировались у мух двух использованных линий. Анализ полученных результатов с помощью методов биоинформатики, генетического картирования позволил авторам идентифицировать 49 кандидатных генов, а также 4 метаболических пути, возможно, участвующих в регуляции старения у дрозофил и человека. Наиболее выраженными изменениями в сторону увеличения при старении были изменения экспрессии генов, кодирующих иммунные пептиды, которые участвуют в антибактериальном ответе. Максимальное снижение экспрессии было отмечено для генов, регулирующих репродуктивную функцию. Были выявлены значительное усиление экспрессии генов энергетического обмена, антиоксидантных ферментов, в том числе, генов каталазы, СОД, *mthl3*, *Indy* и других, а также изменения активности генов межклеточных контактов, адгезии, клеточной миграции и клеточной гибели. Авторы полагают, что 5 групп генов могут играть ведущую роль в старении дрозофилы:

- 15 генов, определяющих продолжительность жизни (*mthl3*, *SelG*, *Indy*, *cher*, *CG7874*, *Tequila*, *Idgf1*, *idgf4*, *Syb* и др.);
- 14 генов семейства цитохромов P450 (*Cyp6a13*, *Cyp6a18*, *Cyp9b2*, *Cyp9h1*, *Cyp313a1*, *Cyp12c1* и др.);
- Гены пероксиредоксина и других оксидоредуктаз (*Prdx-1*, *Prdx2540-2*; *CG10120*, *CG31673*, *Phd*, *Pgi* и др.), участвующих в окислительно-восстановительных реакциях;
- 7 генов энергетического метаболизма (*CG10960*, *CG7801*, *CG10120*, *CG5288*, *CG6767*, *CG6650*, *Pgi*);
- 2 гена убиквитина: *thread* (*th*) и ген С-концевой гидролазы убиквитина (*Uch-L3*).

Изучение профиля транскриптома в скелетных мышцах молодых (21—27 лет) и пожилых (67—75 лет) мужчин показало, что с возрастом снижается экспрессия генов, кодирующих белки, участвующие в энергетическом обмене и синтезе митохондриальных белков, тогда как гены, кодирующие металлопротеины, высокомолекулярные гены, гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины, ряд других генов, связанных с процессингом белков, и компоненты убихинон-протеосомного протеолитического пути, экспрессируются на более высоком уровне (Welle et al., 2003). В другом исследовании этот же коллектив авторов установил, что у женщин при старении в скелетных мышцах увеличена экспрессия 40 генов, кодирующих связывающиеся с пре-мРНК или мРНК, тогда как экспрессия более 100 генов, участвующих в регуляции энергетического метаболизма, существенно снижена (Welle et al., 2004). Уровень экспрессии гена клеточного цикла p21 (ингиби-

тора циклин-зависимой киназы 1A) — один из наиболее высоких в скелетных мышцах старых мужчин и женщин, а также в мышцах старых мышей (Lee et al., 1999), а также обезьян-резус (Каюо et al., 2001). Показано, что индукция p21 в скелетных мышцах является компонентом возрастной транскрипционной программы, индуцируемой в скелетных мышцах у многих видов животных (Park, Prolla, 2005). Интересно, что в исследованиях на людях не выявлено возрастного увеличения экспрессии транскриптов, связанных с окислительным стрессом, что находится в противоречии с данными об увеличении окислительного повреждения ДНК в мышцах человека (Fano et al., 2001).

При сравнительном изучении профиля транскриптома (2135 EST клонов) у 5 детей в возрасте 3—4 года и 5 пожилых людей в возрасте от 68 до 72 лет были выявлены изменения в экспрессии 105 генов (Lener et al., 2006). Активность 43 генов увеличивалась при старении, а 62 генов снижалась. Анализ результатов исследования привел авторов к выводу о дисрегуляции при старении в коже генов, контролирующих клеточный цикл, цитоскелет, воспалительный ответ, передачу сигналов и метаболизм.

Исследование экспрессии генов в культурах клеток фибробластов кожи человека, полученных от доноров разного возраста (от 7 лет до 91 года) с помощью метода олигонуклеотидных микрочипов показало, что экспрессия 401 (2.8 %) гена из изученных 14 500 существенно различалась между молодыми и старыми клетками (Geigl et al., 2004). Среди этих генов были гены, регулирующие клеточный цикл и пролиферацию. Авторы также установили, что три гена (*Notch2*, *H2AFY2* и *CDC5L*) имели сходный тренд изменений экспрессии при старении и развитии анеуплоидии и хромосомной нестабильности, что позволяет предполагать их важную роль в возрастном увеличении частоты рака.

Имеются данные о корреляции между старением мозга на транскрипционном уровне и зависимом от возраста нарушении познавательных функций у крыс (Blalock et al., 2003). Гены, идентифицированные в этом исследовании, были вовлечены в такие связанные с возрастом процессы, как воспаление, окислительный стресс, нарушение биосинтеза белка и снижение функции митохондрий. Результаты изучения профиля транскриптома во фронтальной коре мозга лиц старше 40 лет показало, что имеет место возрастное снижение экспрессии генов, играющих центральную роль в синаптической пластичности, сосудистом транспорте и функции митохондрий (Lu et al., 2004). Среди других находок этой работы — увеличение экспрессии генов ответа на стресс, генов, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты и репарации ДНК.

При сравнительном изучении с помощью микрочипов на примерно 12 000 генов транскриптома в сердце, печени и гипоталамусе у самцов мышей C57BL/6 в возрасте 4—6 и 26—28 месяцев были обнаружены существенные возрастные изменения экспрессии большого числа генов, регулирующих самые разные функции в тканях этих трех органов (Fu et al., 2006). С возрастом изменилась экспрессия 309, 1819 и 1085 генов в сердце, печени

Таблица 3.11

Изменения транскрипционного профиля в различных тканях при старении мышеч (Park, Prolla, 2005, с изменениями)

Головной мозг	Сердце	Скелетная мышца
<p>↑ Воспалительный ответ Индукция: каскада комплемента молекул МНС</p>	<p>↑ Структурные белки Индукция: компонетов внеклеточного матрикса; отложения коллагена; клеточная адгезия</p>	<p>↑ Ответ на стресс Индукция: ответа белка теплового шока; генов, индуцируемых окислительным стрессом; генов, индуцируемых повреждением ДНК</p>
<p>↑ Ответ на стресс Индукция: факторов теплового шока; генов, индуцируемых окислительным стрессом; лизосомальные протеазы</p>	<p>↓ Метаболизм жирных кислот Снижение бета-окисления</p>	<p>↓ Энергетический обмен Уменьшение гликолиза Дисфункция митохондрий</p>
<p>↓ Ростовые и трофические факторы Подавление: генов, регулирующих развитие; нейральная пластичность</p>	<p>↓ Синтез белка Подавление факторов инициации</p>	<p>↑ Повреждение нейронов Рейнервация Рост и удлинение нейритов</p>

и гипоталамусе соответственно. При этом только 9 генов изменяли свою активность во всех трех изученных тканях. Анализ показал, что 68, 87 и 80 % изменений в активности генов были тканеспецифичными. Экспрессия только одного гена (RIKEN cDNA 1500005K14; cfm), участвующего в регуляции фосфорилирования MAP киназы, снижалась во всех трех изученных тканях. Экспрессия еще одного гена, амилазы 1 слюны (amy11; J00356), увеличивалась с возрастом во всех трех тканях. Ген, кодирующий белок адгезии сосудистой стенки 1 (vcam1; U12884) сильнее экспрессировался у старых мышеч в сердце и печени, но слабее — в гипоталамусе. Этот ген, являясь членом суперсемейства генов иммуноглобулинов, опосредует адгезию между лейкоцитами и эндотелием и передачу сигнала, играет важную роль в регуляции воспаления при различных сосудистых патологиях. Авторы полагают, что увеличение с возрастом активности гена *vcam1* в сердце и печени может указывать на больший уровень окислительного стресса в этих органах и объяснять большую частоту атеросклероза у старых животных.

Дальнейший анализ показал, что одним из наиболее заметных изменений при старении является усиление экспрессии генов, регулирующих функцию иммунной системы. В частности, гены иммунного ответа активировались в сердце и печени, а гены, вовлеченные в продукцию и функцию антигенов, активировались во всех трех изученных тканях. Авторы склонны расценивать эти находки как свидетельство компенсаторных процессов

в ответ на возрастное снижение периферического иммунного ответа (Fu et al., 2006). Так, увеличение экспрессии генов системы MHL классов I и II может происходить как компенсация снижения функции презентующих антигены клеток, тогда как увеличение экспрессии генов, регулирующих продукцию иммуноглобулинов, может быть компенсацией за сниженную способность В-клеток продуцировать высокоаффинные антитела (табл. 3.11).

### 3.10. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нам не дано над временем управы.

*Франческо Петрарка*

В табл. 3.12 приведены сведения об основных генах, участвующих в регуляции продолжительности жизни самых различных организмов — от дрожжей до человека. Все эти гены имеют гомологи среди генов человека. Исследования в этом направлении — одно из самых перспективных направлений в современной геронтологии, требующее самого современного оборудования и существенных средств для выполнения становящихся рутинными исследований генетических маркеров старения и ассоциированных с возрастом заболеваний.

В настоящее время нет сомнений в том, что существуют гены, которые влияют на продолжительность жизни и долголетие. Гены долголетия могут проявлять себя различным образом. Так, частичное или полное выключение (нокаут) некоторых генов может увеличивать или уменьшать ожидаемую продолжительность жизни. Таким же эффектом может обладать сверхэкспрессия гена или его какого-либо аллеля. R. N. Butler и соавт. (2003) полагают, что существует семь категорий генов, влияющих на долголетие.

1. Гены, являющиеся «причиной» старения. К этой гипотетической категории генов относят гены, которые вызывают процесс старения. Большинство геронтологов убеждено в том, что у большинства видов животных, включая человека, такие гены отсутствуют, поскольку гены, способствующие старению, вероятно, должны приводить к снижению репродуктивной способности и поэтому должны элиминироваться естественным отбором.

2. Гены, влияние которых на долголетие обусловлено их модулирующим действием на риск возникновения в раннем возрасте патологических процессов и заболеваний. Такие гены вызывают заболевания, существенно укорачивающие продолжительность жизни, но вовсе не обязательно оказывают влияние на собственно процесс старения. Из большого списка генов, вызывающих различные укорачивающие жизнь заболевания, к генам долголетия можно отнести лишь такие, мутантные аллели которых определяют многие аспекты старения. Примерами таких генов у человека могут быть гены *RB* и *BRCA*, ген прогерии Хатчинсона—Гилфорда и некоторые другие.

Таблица 3.12

Гены, существенно влияющие на продолжительность жизни организмов

Вид	Ген	Функция	Модификация гена	Влияние на ПЖ, %
Дрожжи	V-Na- <i>ras</i>	Вирусный онкоген	Суперэкспрессия	+100
Плодовые мухи	<i>Mth</i>	Гомолог мембранного GTP-связывающего белка	Мутация <i>mth</i>	+35
	<i>sod-1</i>	Cu/Zn-супероксид-дисмутаза	Суперэкспрессия в мотонейронах	+40
Нематоды	<i>age 1/daf23</i>	Фосфатидил-инозитол-3-кираза	Мутация в <i>age 1</i>	+100
	<i>daf-2</i>	Гомолог гена рецептора инсулина человека	Мутация в <i>daf-2</i>	+100
Мыши	Тиоредоксин	Восстанавливает окисленные группы в белке	Суперэкспрессия	+30
	<i>p66<sup>shc</sup></i>	Адапторный белок окислительного стресса	Выключение гена (нокаут)	+30
	<i>Igf1r</i>	Рецептор IGF-1	То же	+33
Клетки человека	<i>TERT</i>	Каталитическая субъединица теломеразы	Суперэкспрессия	Увеличивает число удвоений

3. Гены, которые определяют индивидуальный характер старческих проявлений. Таких генов, возможно, тысячи, если не десятки тысяч, как у мышей, так и у человека. У беспозвоночных эти гены труднее идентифицировать, поскольку смерть у таких организмов трудно связать с какой-либо определенной патологией. Различие в таких генах у человека позволяет понять, как скоро тот или иной человек поседеет или облысеет, разовьется ли у него остеопороз, болезнь Альцгеймера, макулярная дегенерация или иное ассоциированное с возрастом заболевание.

4. Гены, которые увеличивают ожидаемую продолжительность жизни и максимальную продолжительность жизни. Такие гены были обнаружены в модельных системах, особенно у нематод и дрозофил. Первые примеры такого рода генов описаны у мышей. К ним могут быть отнесены гены, регулирующие ответ на гормон роста, передачу сигнала IGF-1 и ответ на стресс. Эти гены сами по себе могут вмешиваться в процесс старения, регулируя механизмы, модулирующие скорость старения. Хорошим примером этой категории могут быть карликовые мутантные мыши Snell (*Pit<sup>dw</sup>*), которые не только долго живут, но у которых замедлено старение иммунной системы (клеточное старение), перекрестные сшивки коллагена (экстрацеллю-

лярное старение) и замедлено развитие летальных заболеваний и случайных патологических процессов, таких как артриты. Аллели таких генов существуют и у человека, но их много труднее выявить у долгоживущих видов, чем у короткоживущих.

5. Естественно наблюдаемые аллели и их комбинации, влияющие на старение и тем самым влияющие на ожидаемую продолжительность жизни. Если такие полиморфные генетические локусы, которые влияют на скорость старения у различных видов животных и существуют, они оказывают большое число небольших проявлений и по крайней мере несколько определяемых больших эффектов, как это было показано на мышах (Miller et al., 2001; Jackson et al., 2001). Полагают, что изучение таких мышей может быть особенно полезно для поисков аллелей генов, различно влияющих на скорость старения.

6. Гены, предположительно влияющие на скорость старения, определяемую функцией кодируемых ими белков (так называемые «гены, страхующие долголетие»). Такими примерами могут быть гены, кодирующие белки репарации или предотвращающие повреждение компонентов клетки. При некоторых условиях естественно встречающиеся аллели таких генов могут изменять скорость старения. Таким эффектом, например, обладает ген метионин сульфоксид редуктазы (Moskovitz et al., 2001; Ruan et al., 2002). Поскольку такие гены существуют у мышей, вполне вероятно, что такого рода гены, например гены репарации ДНК или антиоксидантной защитной системы, могут влиять на долголетие человека.

7. Гены, определяющие межвидовые различия ожидаемой продолжительности жизни. Эти действительно гены долголетия представляют большой интерес, и их обнаружение позволит понять огромные различия в скорости старения между различными видами животных, такими как круглый червь, плодовая муха, мышь и человек, а также ответить на вопрос, почему грызуны и птицы одного размера (например, крыса и морская свинка) или различные виды грызунов или рыб (например, мышь или голая землеройка) иногда имеют необычайно большую продолжительность жизни. Пока невозможно какой-либо ген определенно отнести к этой категории, но предполагается, что эти гены должны регулировать течение множества процессов развития и дегенерации, как это делает, например, ограничение калорийности питания, но в значительно большей степени (табл. 3.13).

В зависимости от того, на какие основные функции клеток и организма в целом влияют те или иные гены, модифицирующие процесс старения, они могут быть объединены в три категории: гены, регулирующие метаболизм ДНК (*CKN1*, *Lamin A*, *WRN*, *XPD*, *Terc*, *PASG*, *ATM* и *p53*), гены энергетического обмена и оси гормон роста/инсулинподобный фактор роста-1 (*GH/BP*, *GHRHR*, *IGF-R1*, *Pit1*, *Prop1*, *UPA*) и гены, регулирующие ответ на окислительный стресс (*MSRA*, *p66<sup>shc</sup>*, *Thdx1*) (de Magalhaes, 2005). Пожалуй, лишь один ген *klotho*, функции которого, в общем, неизвестны, не принадлежит ни к одной из этих групп.

Таблица 3.13

Гены, модулирующие старение у млекопитающих  
(de Magalhaes, 2005, с изменениями)

Ген	Название	Фенотип
<b>Мышь (<i>Mus musculus</i>)</b>		
<i>GHR/BP</i>	Рецептор гормона роста	Нокаут увеличивает на 40—50 % ПЖ у гомозиготов
<i>GHRHR</i>	Рецептор рилизинг-фактора гормона роста	Нокаут увеличивает на 20 % ПЖ
<i>IGF-R1</i>	Рецептор IGF-1	Гетерозиготные мыши живут на 26 % дольше мышей дикого типа
<i>klotho</i>	<i>Klotho</i>	Нокаут ускоряет старение
<i>MSRA</i>	Метионин сульфоксид редуктаза А	Нокаут уменьшает ПЖ и ускоряет старение у гомозиготов
<i>p53</i>	Опухолевый протектор 53	Признаки ускоренного старения у гетерозиготных мутантов
<i>p66<sup>shc</sup></i>	<i>p66<sup>shc</sup></i> (SHC1)	Нокаут увеличивает ПЖ на 30 %
<i>PASG</i>	Ассоциированный с пролиферацией SNF2-подобный ген	При разрыве возможно ускорение старения
<i>Pit1</i>	Карликовые мыши Снелл	Увеличение ПЖ на 42 % у гомозиготов
<i>Prop1</i>	Карликовые мыши Эймса	Карликовые мыши Эймса
<i>Terc + ATM</i>	РНК компонент теломеразы + мутация атаксия телангиоэктазия	Ускорение старения у двойных мутантов
<i>Thdx1</i>	Тиоредоксин	Увеличение ПЖ на 35 % у трансгенных мышей
<i>UPA</i>	Урокиназный аткиватор плазминогена	Увеличение ПЖ на 20 % у трансгенных мышей
<i>XPD</i>	Пигментная ксеродерма, группа D	Ускорение старения у гомозиготных мутантов
<b>Человек (<i>Homo sapiens</i>)</b>		
<i>CKN1</i>	Синдром Кокейна, тип I	Преждевременное старение, вызванное рецессивной мутацией
<i>WRN</i>	Синдром Вернера	Ускоренное старение, вызванное рецессивной мутацией
<i>Lamin A</i>	Синдром Хатчинсона—Гилфорда	Преждевременное старение, вызванное доминантной мутацией

Примечание. ПЖ — продолжительность жизни.

Использование микрочиповой технологии изучения транскриптома позволило сравнить особенности его изменения при старении разных видов животных: нематоды, плодовой мухи, мыши и человека (McCarroll et al., 2004). Было установлено, что у двух столь дивергентно различных видов, как *C. elegans* и *D. melanogaster*, программа изменений экспрессии генома при старении весьма сходна и включает гены, вовлеченные в метаболизм митохондрий, репарацию ДНК, катаболизм, пептидолизис и клеточный транспорт. Большинство наблюдавшихся изменений начиналось в раннем возрасте. Ключевое значение придается возрастным изменениям экспрессии генов, регулирующих передачу сигнала в системе инсулин—инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1). У нематод изменения в экспрессии гена *daf-2* выявляются уже на 1-й день взрослой жизни особи (Dillin et al., 2002). У мышей сигналы инсулиновой системы начинают стимулировать увеличение жировой массы и веса тела до периода полового созревания (Blucher et al., 2003). Изменения генов системы регуляции митохондриального окислительного дыхания также начинаются очень рано как у нематоды, так у плодовых мух и млекопитающих (McCarroll et al., 2004). Суммируя имеющиеся в литературе данные по генам семейства сиртуинов, V. Longo и V. Kennedy (2006) приходят к выводу, что Sir2 деацетилазы в определенных условиях могут как замедлять, так и ускорять старение. Согласно одной гипотезе, уменьшение активности генов *Sir2/Sir1* может увеличивать продолжительность жизни, вызывая состояние, близкое к таковому, развивающемуся при ограничении калорийности питания, тогда как избыточная экспрессия *Sir2/Sir1* индуцирует другие изменения, ведущие к замедлению старения, например снижение содержания жира и усиление физической активности.

При сравнении профиля экспрессии генов, контролирующей цепь переноса электронов в клетках нематод, мух, мышей и человека, выявлено определенное сходство его возрастных изменений, однако отмечают, что лишь небольшое число генов этой группы действительно сильно изменяет свою экспрессию (Kim, 2007). При этом возрастной тренд экспрессии генов, кодирующих лизосомальные белки, был сходен у человека, мыши и мух, но не у нематод.

Данные, полученные в опытах с низшими организмами (дрожжами, нематодой, дрозофилой), свидетельствуют о том, что старение и долголетие в определенной мере зависит от реакции на разнообразные стрессорные факторы (de Benedictis et al., 2001). У позвоночных иммуно-нейроэндокринная саморегулирующаяся система способна длительно эффективно функционировать, несмотря на накапливающиеся с возрастом повреждения. В этой связи, заслуживает внимания развиваемая С. Franceschi и соавт. (2000) точка зрения, что старение млекопитающих является последствием хронического стресса. Способность восстанавливаться после стресса с возрастом снижается. В генетически гетерогенных популяциях человека динамика способности поддерживать адекватно, т. е. в сопоставимых с реакцией здоровых лиц пределах, реакцию на стресс, весьма сходна с зависимостью вы-



живаемости от возраста (de Benedictis et al., 2001). Здоровые столетние (Franceschi et al., 2000a), по-видимому, представляют собой самый «хвост» такой кривой, которая формируется наиболее эффективно адаптирующимися индивидуумами, т. е. теми, кто обладает способностью постоянно «перенастраивать» себя перед лицом возникающих во времени проблем. Следует отметить, что во многих случаях исследования по генетике старения выявляют значительное сходство между человеком и низшими животными, например в системе передачи сигнала гормон роста/IGF-1/инсулин. Однако есть наблюдения, свидетельствующие об отсутствии такого сходства. Таким примером может быть ген адапторного белка p66<sup>Shc</sup>, нокаут которого сопровождается увеличением продолжительности жизни у мышей (Migliacchio et al., 1999), тогда как у столетних его экспрессия оказалась выше по сравнению с лицами пожилого и среднего возраста (Pandolfi et al., 2005). Большой проблемой до настоящего времени остается воспроизводимость результатов поиска генов, ассоциированных с долголетием у человека.

### Литература

- Алтухов Ю. П. Гетерозиготность генома, скорость полового созревания и продолжительность жизни // Докл. РАН. 1996. Т. 348. С. 842—845.
- Алтухов Ю. П., Шереметева В. А. Геномная гетерозиготность и продолжительность жизни человека // Докл. РАН. 2000. Т. 371. С. 197—199.
- Баранов В. С., Баранова Е. В. Генетические аспекты старения // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 2. С. 26—34.
- Готов О. С., Баранов В. С. Генетический полиморфизм и старение // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 2. С. 35—55.
- Ковина М. В., Хавинсон В. Х Стрекалов Д. Л. и др. Цитологические и молекулярные изменения при нетипичном случае ускоренного старения человека // Цитология. 2002. Т. 44. С. 930—935.
- Малыгина И. А., Костомарова И. В., Ганковская О. А. и др. Полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента у больных ишемической болезнью сердца пожилого возраста // Клинич. геронтол. 1999. № 4. С. 31—35.
- Михельсон В. М. Наследственное преждевременное старение человека // Клинич. геронтол. 1996. № 4. С. 4—10.
- Мыльников С. В. Генетическая детерминация скорости старения в некоторых линиях *Drosophila melanogaster* // Успехи геронтол. 1997. Т. 1. С. 50—56.
- Новосельцев В. Н., Аркинг Р., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Междисциплинарное моделирование системных механизмов управления репродукцией и старением // Проблемы управления. 2004. № 4. С. 27—40.
- Смирнова А. И., Вершинина Е. А., Мыльников С. В. Изучение вклада трех больших хромосом дрозофилы в детерминацию динамики смертности и интенсивности перекисного окисления липидов // Успехи геронтол. 2000. Т. 4. С. 50—54.
- Сливак И. М., Смирнова Н. И., Плескан И. М., Кольман А. Влияние иммортализации на репаративный потенциал клеток при прогерии // Успехи геронтол. 1999. Т. 3. С. 94—102.
- Того А. В., Григорьев М. Ю., Сустицын Е. И. и др. Распределение аллелей онкогена L-MYC у лиц с онкологической предрасположенностью и онкологической толерантностью // Клинич. геронтол. 1999. № 4. С. 36—42.
- Хавинсон В. Х., Соловьева Д. В., Стрекалов Д. Л. и др. Анализ распределения в российской популяции некоторых генетических маркеров, ассоциированных с мультифакториальной патологией среднего и пожилого возраста // Мед. акад. журн. 2002. Т. 2, № 2. С. 56—66.

- Abbott M. N., Abbey N., Boiling D. R., Murphy E. A. The familial component in longevity. A study of the offsprings of nonagenarians. 3. Intrafamilial studies // *Amer. J. Med. Genet.* 1978. Vol. 2. P. 105—120.
- Adams J. M., Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival // *Science.* 1998. Vol. 281. P. 1322—1326.
- Aigaki T., Seong K., Matsuo T. Longevity determination genes in *Drosophila melanogaster* // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 1531—1541.
- Anisimov S. V. Application of DNA microarray technology to gerontological studies // *Methods Mol. Biol.* 2007. Vol. 371. P. 249—265.
- Anisimov S. V., Boheler K. R. Aging-associated changes in cardiac gene expression: large scale transcriptome analysis // *Adv. Gerontol.* 2003. Vol. 11. P. 67—75.
- Anisimov S. V., Tarasov K. V., Stern M. D. et al. A quantitative and validated SAGE transcriptome reference for adult mouse heart // *Genomics.* 2002. Vol. 80. P. 213—222.
- Anisimov S. V., Volkova M. V., Lenskaya L. V. et al. Age-associated accumulation of the Apolipoprotein C-III gene T-455C polymorphism C allele in a Russian population // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2001. Vol. 56A. P. 827—832.
- Anisimov V. N., Gvardina O.E. N-nitrosomethylurea-induced carcinogenesis in the progeny of male rats of different ages // *Mutat. Res.* 1995. Vol. 316. P. 139—145.
- Apfeld J., Kenyon C. Cell nonautonomy of *C. elegans* daf-2 function in the regulation of diapause and life span // *Cell.* 1998. Vol. 95. P. 199—210.
- Arking D. E., Krebsova A., Macek S. M. et al. Association of human aging with a functional variant of klotho // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. P. 856—861.
- Baranovskaya S., Kusnov S., Fomicheva E. et al. Age as a risk factor for myocardial infarction in Leiden mutation carriers // *Mol. Genet. Metab.* 1998. Vol. 64. P. 155—157.
- Bartke A., Brown-Borg H., Mattison J. et al. Prolonged longevity of hypopituitary mice // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 21—28.
- Blalock E.M., Chen K.C., Sharrow K. et al. Gene microarrays in hippocampal aging: statistical profiling identifies novel processes correlated with cognitive impairment // *J. Neurosci.* 2003. Vol. 23. P. 3807—3819.
- Blander G., Guarente L. The Sir2 family of protein deacetylases // *Annu. Rev. Biochem.* 2004. Vol. 73. P. 417—435.
- Bluher M., Kahn B. B., Kahn C. R. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue // *Science.* 2003. Vol. 299. P. 572—574.
- Bohr V. A. Human premature aging syndromes and genomic instability // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 987—993.
- Bonafe M., Barbieri M., Marchegiani F. et al. Polymorphic variants of insulin-like growth factor I (IGF-1) receptor and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-I plasma levels and human longevity: clues for an evolutionarily conserved mechanism of life span control // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 88. P. 3299—3304.
- Bonafe M., Cardelli M., Marchegiani F. et al. Increase of homozygosity in centenarians revealed by a new inter-Afa PCR technique // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 36. P. 1063—1073.
- Brown-Borg H. M., Borg K. E., Meliska C. J., Bartke A. Dwarf mice and the aging process // *Nature.* 1996. Vol. 384. P. 33.
- Brown-Borg H. M., Rakoczy S. G. Catalase expression in delayed and premature aging mouse models // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 199—212.
- Butler R. N., Austad S. N., Barzilai N. et al. Longevity genes: from primitive organisms to humans // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2003. Vol. 58A. P. 581—584.
- Carey J. R., Judge D. S. Life Spans of Mammals, Birds, Amphibians, Reptiles, and Fish Series Title: Odense Monographs on Population Aging Series No. 8. Odense: Odense University Press Year, 2000. 214 p.
- Cheng H. L., Mostoslavsky R., Saito S. et al. Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. P. 10794—10799.
- Christensen K., Johnson T. E., Vaupel J. W. The quest for genetic determinant of human longevity: challenges and insights // *Nat. Rev. Genet.* 2006. Vol. 7. P. 436—448.

- Christiansen L., Brasch-Andersen C., Bathum L. et al.* A longitudinal study of the effect of GSTT1 and GSTM1 gene copy number on survival // *Mech. Ageing Dev.* 2006a. Vol. 127. P. 597—599.
- Clancy D. J., Gems D., Harslmum L G. et al.* Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein // *Science*. 2001. Vol. 29Z. P. 104—106.
- Coppola R., Mari D., Lattuada A., Fmcesci C.* Von Willebrand factor in Italian centenarians // *Haematologica*. 2003. Vol. 88. P. 39—43.
- Coschigano K.T., Clemmons D., Bellush L.L., Kopchick J.J.* Assessment of growth parameters and life span of GHR/BP gene-disrupted mice // *Endocrinology*. 2000. Vol. 141. P. 2608—2613.
- Crow J. F.* The high spontaneous mutation rate: is it a health risk? // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 8380—8386.
- De Benedictis G., Tan Q., Jeune B. et al.* Recent advances in human gene-longevity association studies // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 909—920.
- De Haan G., Van Zant G.* Dynamic changes in mouse hematopoietic stem cell numbers during aging // *Blood*. 1999. Vol. 15. P. 3294—3301.
- De Haan G., Williams R.W.* A genetic and genomic approach to identify longevity genes in mice // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 133—138.
- De Magalhaes J. P.* Open-minded scepticism: inferring the causal mechanisms of human ageing from genetic perturbations // *Ageing Res. Rev.* 2005. Vol. 5. P. 1—22.
- De Magalhaes J. P., Cabral J. A. S., Magalhaes D.* The influence of genes on the aging process of mice : a statistical assessment of the genetic of aging // *Genetics*. 2005. Vol. 265. P. 265—274.
- Dillin A., Crawford D. K., Kenyon C.* Timing requirements for insulin/IGF-1 signaling in *C. elegans* // *Science*. 2002. Vol. 298. P. 230—234.
- Dockerty J. D., Draper G., Vincent T. et al.* Case-control study of parental age, parity and socioeconomic level in relation to childhood cancers // *Int. J. Epidemiol.* 2001. Vol. 30. P. 1438—1439.
- Fano G., Mecocci P., Vecchiet J. et al.* Age and sex influence on oxidative damage and functional status in human skeletal muscle // *J. Muscle Res. Cell Motil.* 2001. Vol. 21. P. 354—351.
- Finch C. E., Ruvkun G.* The genetics of aging // *Ann. Rev. Gejnomics Hum. Genet.* 2001. Vol. 2. P. 435—462.
- Finch C. E., Tanzi R. E.* Genetics of aging // *Science*. 1997. Vol. 278. P. 407—411.
- Flachsbart F., Croucher P. J., Nikolaus S. et al.* Sirtuin 1 (SIRT1) sequence variation is not associated with exceptional human longevity // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 98—102.
- Flurkey K., Papaconstantinou J., Miller R. A., Harrison D. E.* Life-span extension and delayed immune and collagen aging in mutant mice with defects in growth hormone production // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98. P. 6736—6741.
- Fraga M. F., Ballestar E., Paz M. F. et al.* Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005. Vol. 102. P. 10604—10609.
- Franceschi C., Bonafe W., Valensin S. et al.* Inflammo-aging: An evolutionary perspective on immune senescence // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000. Vol. 908. P. 244—254.
- Franceschi C., Motta L., Valensin S. et al.* Do men and women follow different trajectories to reach extreme longevity? Italian Multicenter Study on Centenarians // *Ageing Clin. Exp. Res.* 2000a. Vol. 12. P. 77—84.
- Fu C., Hickey M., Morrison M. McCarter R., Han E.-S.* Tissue and non-specific changes in gene expression by aging and by early stage CR // *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127. P. 905—916.
- Garasto S., Rose G., Derango F. et al.* The study of APOA1, APOC3 and APOA4 variability in healthy ageing people reveals another paradox in the oldest old subjects // *Ann. Human Gen.* 2003. Vol. 67. P. 54—62.
- Geesaman B., Benson E., Brewster S. et al.* Haplotype-based identification of a microsomal transfer protein marker associated with the human lifespan // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. Vol. 100. P. 14115—14120.
- Geigl J. B., Langer S., Barwisch S. et al.* Analysis of gene expression patterns and chromosomal changes associated with aging // *Cancer Res.* 2004. Vol. 64. P. 8550—8557.

- Gems G., Pletcher S., Partridge L.* Interpreting interactions between treatments triat slow aging // *Aging Cell*. 2002. Vol. 1. P. 1—9.
- Gerdes L. U., Jeune B., Ranberg K. A. et al.* Estimation of apolipoprotein E genotype-specific relative mortality risks from the distribution of genotypes in centenarians and middle-aged men: apolipoprotein E gene is a «frailty gene», not a «longevity gene» // *Genet. Epidemiol.* 2000. Vol. 19. P. 202—210.
- Guarente L., Picard F.* Caloric restriction — the SIR2 connection // *Cell*. 2005. Vol. 120. P. 473—483.
- Harris J. R., Pedersen N. L., McClearn G. E. et al.* Age differences in genetic and environmental influences for health from the Swedish Adoption/Twin Study of aging // *J. Gerontol.* 1992. Vol. 47. P. 213—220.
- Hasty P., Campisi J., Hoeijmakers J. et al.* Aging and genome maintenance: lessons from mouse? // *Science*. 2003. Vol. 299. P. 1355—1359.
- Hayflick L.* How and why we age // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 639—653.
- Hekimi S., Guarente L.* Genetics and the specificity of the aging process // *Science*. 2003. Vol. 299. P. 1351—1354.
- Hemminki K., Kyyronen P.* Parental age and risk of sporadic and familial cancer in offspring: implications for germcell mutagenesis // *Epidemiology*. 1999. Vol. 10. P. 747—751.
- Herndon L. A., Schmeissner P. J., Dudaronek J. M. et al.* Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing *C. elegans* // *Nature*. 2002. Vol. 419. P. 808—814.
- Hjelmborg J. B., Iashine I., Skytthe A. et al.* Genetic influence of human lifespan and longevity // *Hum. Genet.* 2006. Vol. 119. P. 312—321.
- Hockenbery D., Nunes G., Millman C. et al.* Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death // *Nature*. 1990. Vol. 348. P. 334—336.
- Holzberger M., Dupond J., Ducos B. et al.* IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice // *Nature*. 2003. Vol. 421. P. 182—187.
- Hutchison C. J.* Lamins: building blocks or regulators of gene expression? // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002. Vol. 3. P. 848—858.
- Illarionovskiy S. J., Ivanova-Smolenskaya I. A., Markova E. D. et al.* Lack of alpha-synuclein gene mutation in families with autosomal dominant Parkinson's disease in Russia // *J. Neurol.* 2000. Vol. 247. P. 968—969.
- Jazwinski S. M.* Genetics of longevity // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 773—783.
- Kayo T., Allison D. B., Weindruch R., Prolla T. A.* Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98. P. 5093—5098.
- Kenyon C.* A conserved regulatory system for aging // *Cell*. 2001. Vol. 105. P. 165—168.
- Khalyavkin A. V., Yashin A. I.* How the analysis of genetic mutations can help us to solve basic problems in gerontology? I. Life extending genetic modifications in round worm *C. elegans* II // *Успехи геронтол.* 2003. Т. 11. С. 34—42.
- Kim M. M., Yoon S.-O., Cho Y. S., Chung A.-S.* Histone deacetylases, HDAC1 and HSI2, act as a negative regulator of ageing through p53 in human gingival fibroblast // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 124. P. 351—357.
- Kim S. K.* Common aging pathways in worms, flies, mice and humans // *J. Exp. Biol.* 2007. Vol. 210. P. 1607—1612.
- Kirkwood T. B. L., Finch C. E.* The old worms turns more slowly // *Nature*. 2002. Vol. 419. P. 794—795.
- Kopchik J. J., Larion Z.* Is the Larion mouse an accurate model of Larion Syndrome? // *Mol. Genet. Metab.* 1999. Vol. 68. P. 232—236.
- Kusumoto R., Muftuoglu M., Bohr V. A.* The role of WRN in DNA repair is affected by post-translation modifications // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 50—57.
- Kyng K. J., May A., Kolvrna S., Bohr V. A.* Gene expression profiling in Werner syndrome closely resembles that of normal aging // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. Vol. 100. P. 12259—12264.
- Lai C.-Q., Parnell L. D., Lyman R. E. et al.* Candidate genes affecting *Drosophila* life span identified by integrating microarray gene expression analysis and QTL mapping // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 237—249.

- Larke A., Crews D. E. Parental investment, late reproduction, and increased reserve capacity are associated with longevity in humans // *J. Physiol. Anthropol.* 2006. Vol. 25. P. 119—131.
- Lee C. K., Klopp R. C., Weindruch R., Prolla T. A. Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction // *Science.* 1999. Vol. 285. P. 1390—1393.
- Lehmann A. R. Ageing. DNA repair of radiation damage and carcinogenesis: Fact and fiction / Eds A. Likhachev, V. Anisimov, R. Montesano. Age-Related Factors in Carcinogenesis. IARC Sci Publ N 58. Lyon: IARC, 1985. P. 203—214.
- Lener T., Moll P. R., Rimmerthaler M. et al. Expression profiling of aging in the human skin // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 387—397.
- Lin Y. J., Serotide L., Benzer S. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant methuselah // *Science.* 1998. Vol. 28. P. 943—946.
- Link C. D. Transgenic invertebrate models of age-associated neurodegenerative diseases // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1630—1649.
- Lio D., Licastro F., Scola L. et al. Interleukin—10 promoter polymorphism in sporadic Alzheimer's disease // *Genes Immun.* 2003. Vol. 4. P. 234—238.
- Lio D., Mario Pes C., Carru C. et al. Association between the HLA DR alleles and longevity: a study in Sardinian population // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 313—318.
- Ljungquist B., Berg S., Lanke J. et al. The effect of genetic factors for longevity: a comparison of identical and fraternal twins in the Swedish Twin Registry // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 1998. Vol. 53. P. M441—M446.
- Longo V. D., Kennedy B. K. Sirtuins in aging and age-related disease // *Cell.* 2006. Vol. 126. P. 257—268.
- Lu T., Pan Y., Kao S. Y. et al. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain // *Nature.* 2004. V. 429. P. 883—891.
- Lund J., Tedesco P., Duke K. et al. Transcriptional profile of aging in *C. elegans* // *Curr. Biol.* 2002. Vol. 12. P. 1566—1573.
- Ly D. H., Lockhart D. J., Lerener R. A., Shultz P. G. Mitotic misregulation and human aging // *Science.* 2000. Vol. 287. P. 2486—2492.
- Martin G. M. Syndromes of accelerated aging // *Natl. Cancer Inst. Monograph.* 1982. Vol. 60. P. 241—247.
- Mattison J. Ames dwarf mice: a model for delayed aging // *Успехи геронтол.* 2000. Т. 4. С. 141—146.
- McCarroll S. A., Murphy C. T., Zou S. et al. Comparing genomic expression patterns across species identifies shared transcriptional profile in aging // *Nature Genet.* 2004. Vol. 36. P. 197—204.
- Migliaccio E., Giorgio M., Mele S. et al. The p66<sup>shc</sup> adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals // *Nature.* 1999. Vol. 402. P. 309—313.
- Miller R. A., Chirips C., Alchley W. Differential longevity in mouse stocks selected for early life growth trajectory // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2001. Vol. 55A. P. B455—B461.
- Miskin F. T., Masos T., Yahav S. et al. AlphaMUPA mice: a transgenic model for increased life span // *Neurobiol. Aging.* 1999. Vol. 20. P. 555—564.
- Mitsui A., Hamuro J., Nakamura R. et al. Overexpression of human thioredoxin in transgenic mice controls oxidative stress and life span // *Antioxid. Redox Signal.* 2002. Vol. 4. P. 693—696.
- Mohaghegh P., Hickson I. D. DNA helicase deficiencies associated with cancer predisposition and premature ageing disorders // *Hum. Mol. Genet.* 2001. Vol. 10. P. 741—746.
- Moskovitz J., Bar-Noy S., Williams W. M. et al. Methionine sulfoxide reductase (MsrA) is a regulator of antioxidant defense and life span in mammals // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. Vol. 98. P. 12920—12925.
- Mostoslavsky R., Chua K. F., Lombard D. B. et al. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SRT6 // *Cell.* 2006. Vol. 124. P. 315—329.
- Nebel A., Croucher P., Stiegeler R. et al. No association between microsomal triglyceride transfer protein (MTP) haplotype and longevity in humans // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. P. 7906—7809.
- Novoseltsev V. N., Novoseltseva J. A., Boiko S. I. Yashin A. I. What fecundity patterns indicate about aging and longevity: insights from *Drosophila* studies // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2003. Vol. 58A. P. 484—494.

- Orr W. C., Sohal R. S. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster* // *Science*. 1994. Vol. 263. P. 1128—1130.
- Pandolfi S., Bonafe M., Di Tella L. et al. *p66<sup>shc</sup>* is highly expressed in fibroblasts from centenarians // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 839—844.
- Park S.-K., Prolla T. A. Lessons learned from gene expression profile studies of aging and caloric restriction // *Ageing Res. Rev.* 2005. Vol. 4. P. 55—65.
- Parkes T. L., Elia A. J., Dickinson D. et al. Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons // *Nature Genetics*. 1998. Vol. 19. P. 171—174.
- Patridge L., Gems D. Mechanisms of ageing: public or private? // *Nat. Rev. Genet.* 2002. Vol. 3. P. 165—175.
- Pereira-Sntith O. M., Smith J. R. Genetic analysis of indefinite division in human cells. Identification of four complementary groups // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988. Vol. 85. P. 6042—6046.
- Perls T., Atpert L., Frett R. C. Middle-aged mothers live longer // *Nature*. 1997. Vol. 389. P. 133.
- Perls T., Levenson R., Regan M., Puca A. What does it take to live to 100? // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 231—242.
- Perls T., Terry D. Genetics of exceptional longevity // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 725—730.
- Phillips J. P., Campbells D., Michaud D. et al. Null mutation of copper/zinc superoxide dismutase in *Drosophila* confers hypersensitivity to paraquat and reduced longevity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. Vol. 86. P. 2761—2765.
- Puca A., Daly M., Brewster S. et al. A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98. P. 10505—10508.
- Qin X., Zhang S., Matsukuma S. et al. Protection against malignant progression of spontaneously developing liver tumors in transgenic mice expressing O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase // *Jpn. J. Cancer Res.* 2000. Vol. 91. P. 1085—1089.
- Raices M., Maruyama H., Dillin A., Karlseder J. Uncoupling of longevity and telomere length in *C. elegans* // *Plos. Genet.* 2005. Vol. 1. P. e30.
- Reed T., Dick D. M., Uniacke S. K. et al. Genome-wide scan for a healthy aging phenotype provides support for a locus near D4S1564 promoting healthy aging // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 227—232.
- Richardson B. Impact of aging on DNA methylation // *Ageing Res. Rev.* 2003. Vol. 2. P. 245—261.
- Ricklefs R. E., Scheuerlein A., Cohen A. Age-related patterns of fertility in captive populations of birds and mammals // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 741—745.
- Robine J. M., Saito Y., Jagger C. The emergence of extremely old people: the case of Japan // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 735—739.
- Rodin S. N., Rodin A. S. Strand asymmetry of CpG transitions as indicators of G1 phase-dependent origin of multiple tumorigenic p53 mutations in stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95. P. 11 927—11 932.
- Rogina B., Helfand S. L. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to caloric restriction // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 101. P. 15998—16003.
- Rogina B., Reenan R. A., Nilsen S. P., Helfand S. I. Extended life-span conferred by cotransporter gene mutation in *Drosophila* // *Science*. 2000. Vol. 290. P. 2137—2140.
- Rose G., Dato S., Altomare K. et al. Variability of the SIRT3 gene, human silent information regulator Sir2 homologue, and survivorship in the elderly // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 1065—1070.
- Rose M. R. *Evolutionary Biology of Aging*. New York: Oxford Univ. Press, 1991. 221 p.
- Roth G. S., Ingram D. K., Cutler R. G., Lane M. A. Biogical effects of caloric restriction in primates // *Успехи геронтол.* 1999. Т. 3. С. 116—120.
- Ruan H., Tang X. D., Chen M.-L. et al. High quality life extension by the enzyme peptide methionine sulf oxide reductase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. Vol. 99. P. 2748—2753.
- Salvioli S., Olivieri F., Marchegiani F. et al. Genes, ageing and longevity in humans: problems, advantages and perspectives // *Free Radic. Res.* 2006. Vol. 40. P. 1303—1323.

- Scaffidi P., Misteli T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging // *Science*. 2006. Vol. 312. P. 1059—1063.
- Schachter F., Faure-Delanef L., Guenot F. et al. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci // *Nature Genetics*. 1994. Vol. 6. P. 29—32.
- Schaffitzel E., Hertweck M. Recent aging research in *Caenorhabditis elegans* // *Exp. Gerontol*. 2006. Vol. 41. P. 557—563.
- Schwartz M. W., Woods S. C., Porte D. et al. Central nervous system control of food intake // *Nature*. 2000. Vol. 404. P. 661—671.
- Seong K. H., Ogashiva T., Matsuo T. et al. Application of the gene search system to a screen for longevity genes in *Drosophila* // *Biogerontology*. 2001. Vol. 2. P. 209—217.
- Shepherd J. C., Walldorf U., Hug P., Cehring W. J. Fruit flies with additional expression of the elongation factor EF-1 live longer // *Proc. Ant. Acad. Sci. USA*. 1989. Vol. 86. P. 7520—7521.
- Simon A. F., Shih C., Mack A., Benzer S. Steroid control of longevity in *Drosophila melanogaster* // *Science*. 2003. Vol. 200. P. 1407—1410.
- Skulachev V. P. The p<sup>66</sup> protein: A mediator of the programmed death of an organism // *IUBMB Life*. 2000. Vol. 49. P. 177—180.
- Sorensen A. B., Weinert F. E., Sherrod L. R. Human Development and the Life Course: Multi-disciplinary Perspectives. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Assoc., 1986. 245 p.
- Sugawara O., Oshimura M., Koi M. et al. Induction of cellular senescence in immortalized cells by human chromosome I // *Science*. 1990. Vol. 247. P. 707—710.
- Sun J., Tower J. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies // *Mol. Cell. Biol*. 1999. Vol. 19. P. 216—228.
- Suzuki H., Gabriehon E., Clie W. et al. A genomic screen for genes upregulated by demethylation and histone deacetylase inhibition in human colorectal cancer // *Nature Genet*. 2002. Vol. 31. P. 141—149.
- Suzuki T., Iwata T., Minagawa S. et al. Large-scale screening for senescence-associated genes with 5-bromodeoxyuridine and immortal cell lines // First Conference on Functional Genomics of Aging. April 24—27, 2002. Seville, Spain, 2002. P. 12.
- Tatar M., Kkazeaelt A. A., Cursinger J. W. Chaperoning extended life // *Nature*. 1997. Vol. 390. P. 30.
- Tatar M., Kopetman A., Epstein D. et al. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function // *Science*. 2001. Vol. 292. P. 107—110.
- Tissenbaum H. A., Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans* // *Nature*. 2001. Vol. 410. P. 227—230.
- Troen B. R. The biology of aging: a review // *Mt. Sinai J. Med*. 2003. Vol. 70. P. 3—22.
- Van Heemst D., Beekman M., Mooijaart S. P. et al. Reduced insulin/IGF-1 signaling and human longevity // *Aging Cell*. 2005. Vol. 4. P. 79—85.
- Van Voorhies W. A., Ward S. Genetic and environmental conditions that increase longevity in *Caenorhabditis elegans* decrease metabolic rate // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. Vol. 96. P. 11399—11403.
- Velculescu V. E., Madden S. L., Zhang L. et al. Analysis of human transcriptomes // *Nat. Genet*. 1999. Vol. 23. P. 387—388.
- Vijg J., Calder R. B. Transcript of aging // *Trends Genetics*. 2004. Vol. 20. P. 221—224.
- Walter C. A., Intano G. W., McCarrey J. R. et al. Mutation frequency declines during spermatogenesis in young mice but increases in old mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95. P. 10015—10019.
- Wang Y., Tissenbaum H. A. Overlapping and distinct functions for a *Caenorhabditis elegans* SIR2 and DAF-16/FOXO // *Mech. Ageing Dev*. 2006. Vol. 127. P. 48—56.
- Weindruch R., Kayo T., Lee C. K., Prolla T. A. Gene expression profiling of aging using DNA microarrays // *Mech. Ageing Dev*. 2002. Vol. 123. P. 177—193.
- Weindruch R., Walford R. The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction. Springfield, Ill.: C. C. Thomas, 1988. 310 p.
- Welle S. Gene transcript profiling in aging research // *Exp. Gerontol*. 2002. Vol. 37. P. 583—590.

*Welle S., Brooks A. I., Delehanty J. M. et al.* Gene expression profile of aging in human muscle // *Physiol. Genomics*. 2003. Vol. 14. P. 149—159.

*Welle S., Brooks A. I., Delehanty J. M. et al.* Skeletal muscle gene expression profiles in 20—29 year old and 65—71 year old women // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 360—377.

*Westendorp R. G., Kirkwood T. B. L.* Human longevity at the cost of reproductive success // *Nature*. 1998. Vol. 396. P. 743—746.

*Willcox B. J., Willcox D. C., He Q. et al.* Siblings of Okinawan centenarians share lifelong mortality advantages // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2006. Vol. 61A. P. 345—354.

*Willcox D. C., Willcox B. J., Todoriki H. et al.* Caloric restriction and human longevity: what can we learn from the Okinawians? // *Biogerontology*. 2006a. Vol. 7. P. 173—177.

*Yang H., Lavu S., Sinclair D. A.* Nampt/PBEF/Visfatin: A regulator of mammalian health and longevity? // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 718—726.

*Yashin A. I., de Benedictis C., Vaupel J. et al.* Genes and longevity: lessons from centenarian Studies // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2000. Vol. 55A. P. B1—B10.

*Yashin A. I., de Benedictis G., Vaupel J. et al.* Genes demography and life span: the contribution of demographic data in genetic studies of aging and longevity // *Am. J. Human Genet.* 1999. Vol. 65. P. 178—1193.

*Young R. A.* Biomedical discovery with DNA arrays // *Cell*. 2000. Vol. 102. P. 9—15.



## Глава 4

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ

Многие вещи непонятны нам не потому, что наши понятия слабы, но потому, что сии вещи не входят в круг наших понятий.

*Козьма Прутков. Плоды раздумий*

#### 4.1. МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И СТАРЕНИЕ

Молекулярные события, определяющие транскрипцию, имеют решающий интерес для геронтологов, поскольку регуляция экспрессии генов коренным образом влияет на старение и старческие изменения. Факторы, влияющие на экспрессию гена, но не прямо вызывающие изменения в генетическом коде, могут играть роль в старении. Одним из них является метилирование ДНК (Catania, Fairweather, 1991). До 5 % всех остатков цитозина в ДНК млекопитающих метилировано по 5' позиции с образованием 5-метилцитозина (5мЦ). Это единственное постоянно модифицированное основание в ДНК высших эукариот. Метилирование происходит в обеих нитях ДНК, симметрично и остатки 5мЦ всегда фланкируются остатками гуанина со стороны 3'-конца. Метилированные остатки цитозина выполняют различные функции, но что еще более важно, метилирование ДНК вовлечено в регуляцию активности генов. Изменения в метилировании, в частности деметилирование динуклеотидов у позвоночных, связано с изменением уровня транскрипции (Maas-Hoopes, 1989). Возрастное деметилирование ДНК было впервые описано в 1973 г. Б. Ф. Ванюшиным и соавт. (Vanyushin et al., 1973). При этом была обнаружена разница в степени деметилирования в тканях крыс — в ткани мозга оно преобладало над тканью печени. В дальнейшем было обнаружено возрастное снижение 5мЦ в легких и культурах фибробластов кожи, для последних была показана связь деметилирования со снижением возможности к росту в культуре (Wilson, Jones, 1983). Было высказано предположение о том, что возрастное деметилирование предрасполагает клетки к опухолевой трансформации.

В табл. 4.1 суммированы сведения о генах человека, возрастные нарушения функции которых обусловлены гиперметилированием (Yuasa, 2002). Аберрантные участки метилирования ДНК размером от 0.5 до нескольких тысяч пар оснований являются существенным механизмом инактивации активности генов и часто наблюдаются при раке. Эти участки располагаются вблизи генов, часто они обнаруживаются около промоторных областей широко экспрессирующихся генов. Возрастное гиперметилирование наблюдали в нормальной слизистой оболочке толстой кишки и в ряде других орга-

Таблица 4.1

**Возрастные нарушения метилирования генов  
(Yuasa et al., 2002, с дополнениями)**

Ген	Функция	Локализация на хромосоме	Орган
CSPG2	Протеин-гликан хряща	5q12-14	Толстая кишка
DBCCR1	Супрессорный локус	9q32-33	Мочевой пузырь
ER	Рецептор эстрогенов	6q25.1	Толстая кишка
hIC1	Цинк-содержащий белок	17p13.3	Предстательная железа
IGF-2	Инсулинподобный фактор-2	11p15.5	Толстая кишка
MYOD1	Фактор миогенеза	11p15.4	» »
hMLH1	Репарация ДНК	2q22	Желудок
N33	Супрессорный ген рака предстательной железы	8p22	Толстая кишка

нов, причем хронические воспалительные процессы, например хронический язвенный колит или инфицирование *Helicobacter pylori*, ассоциированы с избыточным метилированием (Yuasa, 2002). Отмечают, что метилирование увеличивается с возрастом линейно, хотя степень его нарастания может варьировать. Метилирование таких генов репарации ДНК, как *hMLH1*, *MGMT* и *GSTP1*, приводя их к инактивации, может способствовать возрастному накоплению мутаций и, возможно, ускоренному старению и увеличению риска развития рака.

Было установлено, что одна треть монозиготных близнецов имеет существенные различия в метилировании ДНК и модификациях гистонов (Fraga et al., 2005). Эти эпигенетические маркеры распределены по всему геному, изменяя последовательность повторов в ДНК и одиночных генов, что сказывается на профиле экспрессии генов. Важно отметить, что с возрастом эпигенетические различия усугубляются, что свидетельствует о важности факторов окружающей среды для трансляции общего генотипа в различные фенотипы (Fraga et al., 2005). Эти наблюдения согласуются с данными о дискордантности частоты/начала различных заболеваний у близнецов (Cardno et al., 2002; Weksberg et al., 2002).

#### 4.2. ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ И ДНК

Нуклеиновые кислоты и белки могут быть модифицированы с помощью добавления сахаров к их свободным аминокетильным группам, что ведет к структурной и функциональной перестройке молекул. Интерес к реакции между глюкозой и белками, известной как реакция Мейяра (Maillard), значительно вырос после того, как стало очевидно, что глюкоза способна ковалентно, без участия ферментов, модифицировать белки в условиях *in vivo* (Кудинов,

Таблица 4.2

**Процессы, развивающиеся при активации рецепторов конечных продуктов глубокого гликозилирования (AGE-рецепторов) (Кудинов, 1994, с модификациями)**

Эффекторные клетки	Наблюдаемые явления
Моноциты/макрофаги	Эндоцитоз и расщепление модифицированных белков; продукция медиаторов воспаления; продукция ростовых факторов; хемотаксис
Т-лимфоциты	Продукция цитокинов (интерферон и др.)
Эндотелиальные клетки сосудов	Повышение проницаемости и трансэндотелиального транспорта; частичное расщепление AGE; снижение противосвертывающей активности
Мезангиальные клетки	Эндоцитоз и расщепление AGE; повышение синтеза компонентов мембраны клубочков (коллаген IV, ламинин, фибронектин); синтез тромбоцитарного фактора роста (PDGF)
Фибробласты	Продукция эпидермального фактора роста (EGF); стимуляция пролиферации
Гладкомышечные клетки	Утрата контрактильности; стимуляция пролиферации

1994). Процесс неферментативного гликозилирования включает несколько этапов: связывание глюкозы со свободными аминогруппами с образованием оснований Шиффа, с последующим их превращением в более стабильные продукты Амадори и затем — в конечные продукты глубокого гликозилирования (AGE — advanced glycosylation endproducts). Конечные продукты реакции Мейяра труднорастворимы, устойчивы к протеолитическому расщеплению, весьма активны химически и способны образовывать внутримолекулярные сшивки (например, в коллагене), ковалентно связывать белки, которые вследствие своего быстрого обновления (например, ЛПНП, IgG), а также некоторые другие вещества, имеющие свободные аминогруппы (ДНК, некоторые липиды), химически инактивировать окись азота (NO) (Кудинов, 1994; Suji, Sivakami, 2004).

Была выявлена группа мембранных белков, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов, которые выполняют функцию рецепторов для глубоко гликолизированных молекул. AGE-рецепторы обнаружены на фибробластах, Т-лимфоцитах, в почках (мезангиальные клетки), в стенке сосудов (эндотелий и гладкомышечные клетки), в мозге, а также в печени и селезенке, где они выявляются в наибольшем количестве, т. е. в тканях, богатых макрофагами. В макрофагах наблюдается интенсивное разрушение продуктов реакции Мейяра. При этом происходит не только активация эндоцитоза, но и синтез многих регуляторных молекул, в частности инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) и тромбоцитарного фактора роста (PDGF), являющихся стимуляторами деления фибробластов, гладкомышечных и мезангиальных клеток (Vlassara et al., 1994). В табл. 4.2 приведены сведения

об основных процессах, развивающихся при активации рецепторов к конечным продуктам гликозилирования.

Неэнзиматическое гликозилирование биологически важных молекул становится все более важной областью в изучении диабета и процесса нормального старения. Такие моносахара, как Д-глюкоза или Д-галактоза, запускают цепь химических событий, продуцирующую метаболиты, способные создавать ковалентные связи внутри белковых молекул и связывать различные белки между собой. В коллагене, содержащем большое количество глюкозы, было обнаружено увеличение количества связей у пожилых и больных диабетом по сравнению с нормальными людьми (Kohn et al., 1984). Такое увеличение количества связей в коллагене снижает его эластичность и такое изменение на молекулярном уровне может являться причиной утолщения базальной мембраны, например в мезангиальном матриксе почек, и может приводить к почечной недостаточности при диабете, а также быть причиной возрастного снижения функции почек. Полагают, что этот механизм играет роль в сужении артерий, уменьшении сосудистого кровотока и снижении гибкости сухожилий. Исследования параметров теплового разрушения нативных структур коллагена крыс разного возраста позволили установить их связь с биологическим возрастом (Церетели и др., 1996).

Гипергликемия способствует образованию конечных продуктов гликозилирования и активных форм кислорода (Кудинов, 1994). Было установлено, что гипергликемия способствует накоплению делеций в митохондриальной ДНК и других мутаций в клетках мышечной оболочки сосудов. При нелеченном диабете с высоким уровнем глюкозы наблюдаются многие признаки ускоренного старения, такие как нарушенное заживление ран, катаракта, повреждения сосудов и капилляров и повышенный риск развития рака (Dilman, 1994). Продукты AGE угнетают включение CD34 прогениторных клеток в выросты эндотелия при ангиогенезе и активируют апоптоз этих клеток у больных сахарным диабетом, что рассматривают как новый важный патофизиологический механизм связи между диабетом и старением в развитии сосудистых дисфункций (Scheubel et al., 2006). Накопление маркера AGE пентозидина ускорено при диабете и рассматривается как адекватный маркер старения (Ulrich, Cerami, 2001). Было показано, что в коллагене кожи коротко- и долгоживущих видов животных уровень маркера гликозилирования пентозидина был обратно пропорционален видовой максимальной продолжительности жизни (Sell et al., 1996). Ключевая роль механизма передачи сигнала инсулина как фактора, определяющего долголетие, убедительно показана на различных моделях беспозвоночных (см. главы 3 и 7).

Одним из нескольких эффективных способов предупреждения старения является снижение калорийности пищи, возможным механизмом влияния такой диеты является снижение концентрации глюкозы в крови и уменьшение неэнзиматического присоединения глюкозы к долгоживущим белкам, например к гемоглобину (Ulrich, Cerami, 2001; подробнее см. главу 14). Снижение концентрации глюкозы приводит к снижению как гликозилиро-

вания белков, так и перекисного окисления липидов. Определяющим негативный эффект гликозилирования является не собственно присоединение глюкозы к долгоживущим белкам, а происходящее вследствие этого обусловленное свободными радикалами их окислительное повреждение. Нуклеотиды и ДНК также подвергаются неэнзиматическому гликозилированию, что приводит к мутациям из-за прямого повреждения ДНК и инактивации систем репарации ошибок рекомбинации, это также вызывает повышенную ломкость хромосом (Yin, Chen, 2005). В настоящее время изучаются подходы к предупреждению влияния гликозилирования на долгоживущие белки с помощью фармакологических и генетических воздействий. Так, использование аминогуанидина может быть полезным в лечении обусловленных возрастом и диабетом осложнений. Показано, что он предупреждает изменение базальной мембраны, атеросклероз и поражение почек при диабете. Длительное введение мышам и крысам антидиабетических бигуанидов приводило к замедлению старения репродуктивной системы, увеличению продолжительности жизни животных (см. главу 15).

### 4.3. РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В СТАРЕНИИ

Ваша теория и солидна, и остроумна.  
Впрочем, все теории стоят одна другой.

*Воланд. (М. А. Булгаков. Мастер и Маргарита)*

#### 4.3.1. Продукция свободных радикалов при старении

Считается, что интенсивность продукции АФК в тканях организма с возрастом постепенно увеличивается (Эмануэль, 1975; Скулачев, 1997; Ozawa, 1997; Лю, 2003; de Magalhaes, Church, 2006). Имеются данные, свидетельствующие о повышении с возрастом скорости продукции супероксида митохондриями в разных тканях животных и человека (Ames et al., 1993, 1995). Полагают, что этот феномен обусловлен окислительным повреждением мембран самих митохондрий, являющихся главным источником АФК в организме. Наряду с митохондриями свободные радикалы могут генерироваться в результате многих ферментативных и неферментативных реакций. Однако в сравнении с другими системами клетки, продуцирующими АФК (цитохромом P-450, цитозольными оксидазами, бета-окислением жирных кислот в пероксисомах и т. д.), именно окислительное повреждение митохондрий признается одним из основных факторов старения и ассоциированных с ним заболеваний, таких как рак, сердечно-сосудистые заболевания, дисфункции ЦНС, болезни иммунной системы, катаракта и ряд других (Ames et al., 1995; Хавинсон и др., 2003, Лю, 2003; Varja, 2007).

Цепь переноса электронов в митохондриях, в которой катализируется фосфорилирование АДФ в АТФ включает в себя пять протеиновых комп-

лексов. Комплексы I—IV участвуют в окислении НАД.Н, переносе электронов и создании электрохимического градиента мембраны. Этот градиент, создающийся прокачиванием протонов через внутреннюю мембрану митохондрий, используется АТФ-синтазой (комплекс V) как источник энергии. Два участка электронно-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий непосредственно связаны с генерацией супероксидного радикала: комплекс I (НАД.Н-дегидрогеназа) и комплекс III (убихинон—цитохром C редуктаза). Если в условиях нормального метаболизма комплекс III является основным компонентом ЭТЦ митохондрий, продуцирующим АФК, то при старении наблюдается повышенное образование промежуточного продукта регенерации убихинона (коэнзима Q), который способен неферментативным путем передавать электроны на молекулярный кислород с образованием супероксидного радикала (Ames et al., 1995). Установлено, что связанная с возрастом неустойчивость работы ЭТЦ в митохондриях вызывает увеличение образования супероксидного радикала, гидроксильного радикала и перекиси водорода (Ames et al., 1995).

В результате окислительных нарушений функций структуры белков внутренней мембраны митохондрий, а также мутаций митохондриальной ДНК (мтДНК), может происходить существенное снижение эффективности переноса электронов по ЭТЦ, что вследствие неустойчивости в стехиометрии переноса электронов митохондриальными белками ведет к утечкам в передаче электронов к конечному акцептору — цитохромоксидазе, что в свою очередь еще больше увеличивает вероятность образования АФК. К повышенному образованию АФК, в частности супероксида и перекиси водорода, могут приводить реакции взаимодействия белков внутренней мембраны митохондрий с оксидантами или реактивными альдегидами, образованными при перекисном окислении липидов, что также способствует повреждению и дисфункции митохондрий. Об этом свидетельствуют также результаты исследования с помощью конфокального микроскопа целостности внутренней мембраны митохондрий молодых (8 мес.) и старых (26 мес.) крыс линии F344 (Meng et al., 2007).

#### 4.3.2. Система антиоксидантной защиты при старении

Подавляющее большинство АФК нейтрализуется еще до того, как они успеют повредить те или иные компоненты клетки. Так, из каждого миллиона образующихся супероксидных радикалов от ферментной защиты ускользает не более четырех. К основным эндогенным факторам антиоксидантной защиты организма относятся некоторые ферменты и витамины (табл. 4.3 и 4.4).

Установлено, что диплоидные клетки человека при культивировании *in vitro* более чувствительны к окислительному стрессу на более поздних пассажах, чем на ранних пассажах. Однако резистентность фибробластов кожи, полученных от старых (72—81-летних) доноров была существенно

Таблица 4.3

**Факторы, защищающие макромолекулы клеток от повреждения свободными радикалами**

Мишень	Агент	Функция
$O_2^{\bullet-}$ $H_2O_2$	Супероксиддисмутаза Глютатион-пероксидаза Каталаза	Превращает $O_2^{\bullet-}$ в $H_2O_2$ Превращает $H_2O_2$ в $H_2O$ и $O_2$ То же
Свободные радикалы	$\beta$ -каротин (провитамин А) Витамин Е ( $\alpha$ -токоферол) Витамин С (аскорбиновая кислота) Мочевая кислота Мелатонин	Связывает жирорастворимые свободные радикалы Связывает водорастворимые свободные радикалы Связывает жир- и водорастворимые свободные радикалы
Переходные металлы	Хелатные агенты	Предотвращают катализ свободно-радикальных реакций переходными металлами, железом и медью

Таблица 4.4

**Гены, участвующие в процессах окисления и восстановления, и их роль в старении (de Magalhaes, 2005, с изменениями)\***

Ген	Вид	Функция	Фенотип
<i>CAT</i>	<i>C. elegans</i>	Антиокислительный фермент	Применение миметиков каталазы увеличивает ПЖ
<i>CAT</i>	<i>D. melanogaster</i>	» »	Экспрессия каталазы и SOD1 замедляет старение
<i>CAT</i>	<i>M. musculus</i>	» »	Нет данных об увеличении ПЖ
<i>CAT</i>	<i>H. sapiens</i>	» »	Наследственный дефицит каталазы
<i>CKL</i>	<i>C. elegans</i>	Биосинтез убихинона	Мутации увеличивают ПЖ
<i>GPX</i>	<i>M. musculus</i>	Антиокислительный фермент	Дефицит не влияет на здоровье
<i>GPX</i>	Тот же	» »	Суперэкспрессия приводит к резистентности к инсулину и ожирению
<i>GSR</i>	<i>D. melanogaster</i>	» »	Суперэкспрессия увеличивает ПЖ в условиях гипероксии, но не нормоксии
<i>MSRA</i>	Тот же	Репарация окислительных повреждений	Нокаут уменьшает ПЖ и ускоряет старение

Таблица 4.4 (продолжение)

Ген	Вид	Функция	Фенотип
<i>MSRA</i>	<i>M. musculus</i>	Репарция окислительных повреждений	Нокаут уменьшает ПЖ и ускоряет старение
<i>p66<sup>shc</sup></i>	Тот же	Апоптоз и редокс-потенциал	Мутанты живут дольше
<i>Prdx1</i>	» »	Антиоксидант	Мутанты живут меньше, но без признаков преждевременного старения
<i>SOD</i>	<i>C. elegans</i>	Антиокислительный фермент	Применение миметиков SOD увеличивает ПЖ
<i>SOD1</i>	<i>D. melanogaster</i>	» »	Суперэкспрессия увеличивает ПЖ
<i>SOD1</i>	<i>M. musculus</i>	» »	Суперэкспрессия не увеличивает ПЖ
<i>SOD1</i>	<i>Lasius niger</i>	» »	Негативная корреляция между ПЖ и уровнем экспрессии SOD1
<i>SOD2</i>	<i>M. musculus</i>	» »	Не влияет на ПЖ и процесс старения гетерозиготных животных
<i>Thdx1</i>	Тот же	Редокс-активный белок	Трансгенные животные живут дольше

Примечание. \* — полную библиографию см. гл. 3, а также: de Magalhaes, 2005.

выше, чем фибробластов от молодых (21—39-летних) доноров (Matsuo et al., 2004). Активность Cu/Zn СОД, Mn СОД и каталазы в клетках молодых и старых доноров не различалась, тогда как уровень мРНК Cu/Zn СОД и Mn СОД в старых клетках был существенно ниже, чем в молодых, а уровень каталазы не различался. В то же время активность глутатион пероксидазы была выше в клетках старых доноров, а уровень мРНК этого фермента был одинаков при сравнении с клетками, полученными от молодых доноров. Авторы полагают, что глутатион пероксидаза может играть важную роль в резистентности к окислительному стрессу в клетках пожилых людей.

Показано, что с возрастом в ряде тканей происходит снижение активности ключевых ферментов антиокислительной защиты — СОД и глутатион пероксидазы, а также общая антиокислительная активность (АОА). Так, у старых (30 мес.) самок крыс наблюдали существенное снижение активности СОД в головном мозге (в 1.9 раза) и печени (в 2.4 раза) по сравнению с 3-месячными крысами, тогда как активность СОД в сыворотке крови с возрастом существенно не изменялась (Анисимов и др., 1999). Активность глутатион пероксидазы в головном мозге 24-месячных крыс была в 2.8 раза меньше, чем у 3-месячных животных (Хавинсон и др., 2003). Близкие данные были получены при изучении активности антиокислительных фермен-



тов в головном мозге и печени старых (26-месячных) крыс F344 (Meng et al., 2007). Авторы наблюдали снижение активности Cu/Zn СОД, Mn СОД и глутатион пероксидазы у старых крыс по сравнению с молодыми (8-месячными) животными.

Половые различия в динамике активности антиокислительных ферментов в головном мозге были изучены у крыс Вистар в возрасте 3, 6, 12 и 20 мес. (Ehrenbrink et al., 2006). У самок не было обнаружено возрастных изменений в активности каталазы, тогда как ее уровень у годовалых самцов был существенно снижен как по сравнению с другими возрастными группами самцов, так и по сравнению с 12-месячными самками. Активность глутатион пероксидазы была минимальной у самок в возрасте 20 мес., тогда как у старых самцов она повышалась. Активность СОД у самок снижалась с 3-го по 6-й мес. жизни, была повышенной у 12-месячных самок и затем снова снижалась. У самцов наблюдалось постепенное снижение активности СОД с возрастом. Уровень карбонильных остатков в головном мозге самок и самцов крыс в возрасте 6 мес. был соответственно в 2.5 и 4 раза больше, чем в возрасте 3 мес., однако снижался у животных в возрасте 12 и 20 мес., у самцов оставаясь при этом на более высоком уровне, чем у самок. Авторы склонны объяснять полученные результаты защитным действием эстрогенов у самок.

Было установлено, что с возрастом происходит снижение общей антиокислительной и антирадикальной активности крови у людей (Anisimov et al., 2001; Хавинсон и др., 2003). В крови при старении отмечали снижение уровня селена и тиоловых соединений, а также аскорбиновой кислоты. В плазме крови людей в возрасте 60—97 лет уровень глутатиона был существенно снижен, а содержание продуктов ПОЛ повышено по сравнению с лицами молодого (20—39 лет) возраста. Изучение полиморфизма С47Т в гене *MnSOD* в двух больших популяциях людей не выявило какой-либо его ассоциации с выживаемостью, причем эта нулевая ассоциация не модифицировалась при учете потребления фруктов, овощей, привычки к табакокурению или индексом массы тела (Genkinger et al., 2006).

Следует заметить, что данные о возрастных изменениях отдельных компонентов, входящих в систему антиокислительной защиты организма, весьма фрагментарны и подчас противоречивы. В. К. Кольтовер (1998) полагает, что в целом в органах и тканях, не затронутых какой-либо ассоциированной с возрастом патологией, активность СОД и других компонентов этой системы при старении снижается по крайней мере в самом преклонном возрасте, что может отражать возрастное снижение интенсивности окислительного метаболизма. Однако при развитии какой-либо возрастной патологии активность СОД и других компонентов антиоксидантной защиты не снижается или может даже повышаться с возрастом.

Показано, что в условиях гипероксии у старых нематод и крыс не происходило индукции СОД и других антиокислительных ферментов, что сопровождалось повышенной чувствительностью к токсическому действию кислорода старых животных по сравнению с молодыми (Гусев, Панченко, 1997).

В последние годы в связи с выявлением высокой антиокислительной активности индольного гормона эпифиза мелатонина (Reiter et al., 1995), которая по некоторым оценкам в несколько раз превышает антиоксидантную активность глутатиона и токоферола, предполагается, что возрастное снижение продукции мелатонина эпифизом может играть существенную роль в развитии при старении окислительного стресса. Подробнее роль мелатонина как антиоксиданта будет рассмотрена ниже.

#### 4.3.3. Окислительное повреждение биомолекул при старении

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что с возрастом в органах и тканях животных и человека накапливаются продукты окислительного повреждения макромолекул (ДНК, белков, липидов и других) (Лю, 2003; de Magalhaes, Church, 2006).

Возрастные изменения липидного состава клеточных мембран, в частности накопление в них количества длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот и уменьшение доли более устойчивых к перекисному окислению, таких как линолевая кислота, сопровождается изменениями функций мембран. При этом снижается активность связанных с мембраной ферментов, нарушается функция рецепторов и каналов, транспорт электролитов, уменьшается текучесть мембран в целом. Поскольку большая часть этих изменений происходит в составе жирных кислот кардиолипина, основная роль которого состоит в поддержании активности ключевых ферментов внутренней мембраны митохондрий, то становится более понятен механизм возрастных нарушений функции митохондрий.

У людей старческого возраста (83—85 лет) и долгожителей (90—105 лет) выявлено повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в липопротеинах низкой плотности (ЛНП) в крови и снижение устойчивости ЛНП к окислению по сравнению со здоровыми людьми в возрасте 36—59 лет (Шабалин и др., 2002).

Имеющиеся в литературе данные о возрастной динамике уровня ПОЛ в разных органах и тканях животных довольно противоречивы (Ames et al., 1995). По нашим наблюдениям, в головном мозге и печени у крыс в возрасте 30 мес. уровень диеновых конъюгатов не отличался от такового в тех же органах крыс в возрасте 3 мес., а в сыворотке крови — повышался. При этом, уровень оснований Шиффа в головном мозге с возрастом снижался, а в печени и сыворотке крови повышался (Анисимов и др., 1999). Не было обнаружено достоверных различий в уровне диеновых конъюгатов в головном мозге 3- и 24-месячных крыс, тогда как уровень этих же продуктов ПОЛ в сыворотке крови с возрастом несколько увеличивался (Хавинсон и др., 2003).

Уровень перекисного окисления белков, определяемый по концентрации СО-производных аминокислот, был практически одинаков у 3- и 24-месячных крыс (Хавинсон и др., 2003), не изменялся в сыворотке крови и го-

ловном мозге крыс, но повышался в сыворотке крови и печени, но не в головном мозге, у 30-месячных крыс по сравнению с 3-месячными (Анисимов и др., 1999). Выявлено существенное накопление с возрастом продуктов окислительного повреждения белков свободными радикалами, генерируемыми нейтрофилами (Pleshakova et al., 1998; Плешакова и др., 2000). При старении человека в разных тканях наблюдается накопление поврежденных различных белков, связанное не только с окислительным стрессом, но и с мутациями в генах, ошибками транскрипции и трансляции, рацемизацией и изомеризацией аминокислот, деаминацией амидов, гликозилированием (Hepkiss, 2006).

При лонгитудинальном исследовании экскреции с мочой продуктов окислительного повреждения ДНК 8-оксигуанина (8-ОН-Г) и его дезоксирибонуклеозида (8-ОН-дГ) у мышей и крыс обнаружено снижение величины их выведения с возрастом (Обухова и др., 1997), что может отражать снижение эффективности репарации этих модифицированных оснований, поскольку при этом увеличивается их содержание в ДНК печени, почек и желудка (Ames, 1989). Поскольку в митохондриях ДНК не защищена гистонами, которые в ядре связываются с ДНК и защищают ее от повреждений, мтДНК более уязвима и поэтому в митохондриальной ДНК обнаруживается на порядок больше 8-ОН-дГ, чем в ядерной ДНК (Ozawa, 1997).

Установлено, что уровень 8-ОН-дГ по отношению к дезоксигуанозину в мтДНК, в отличие от ядерной ДНК, увеличивается с возрастом и хорошо коррелирует с максимальной продолжительностью жизни у млекопитающих (Varja, 2007). Имеются данные о накоплении с возрастом окислительных повреждений мтДНК в диафрагмальной мышце, головном мозге человека, в печени крыс и в различных органах сирийских золотистых хомячков (Takabayashi et al., 2004). Отмечают, что увеличение накопления 8-ОН-дГ в тканях хомячков скорее обусловлено не снижением активности ферментов антиокислительной защиты, а снижением эффективности системы репарации поврежденной окислительным стрессом ДНК (Takabayashi et al., 2004).

Нами была изучена возрастная динамика отдельных показателей свободнорадикальных процессов и антиокислительной системы у самцов крыс (Анисимов и др., 1999). Как можно судить по данным, приведенным в табл. 4.5, в головном мозге старых крыс активность СОД оказалась на 47 % сниженной по сравнению с молодыми животными. Концентрация оснований Шиффа также снижалась (на 14 %), тогда как уровень диеновых конъюгатов, перекисного окисления белков и общей антиокислительной активности (о нем судили по количеству СО-карбонильных остатков аминокислот) не изменялся с возрастом.

В печени старых крыс наблюдалось существенное увеличение концентрации продуктов перекисного окисления белков (на 109 %) и оснований Шиффа (на 27 %), а также значительное снижение активности СОД (на 58 %). Уровень диеновых конъюгатов и общая антиокислительная активность в печени с возрастом не изменялись. Иная динамика возрастных из-

Таблица 4.5

**Параметры свободнорадикальных процессов в головном мозге, печени и сыворотке крови молодых и старых самцов крыс (Анисимов и др., 1999)**

Показатели	Молодые крысы (3 мес.)		
	Головной мозг	Печень	Сыворотка крови
АФК, усл. ед./мг белка	Не определяли	980.0 ± 122.5	0.34 ± 0.03
Диеновые конъюгаты, нмоль/мг белка	40.19 ± 2.25	55.8 ± 4.1	3.59 ± 0.32
Основания Шиффа, усл. ед./мг белка	318.0 ± 2.9	520.1 ± 26.2	19.0 ± 1.72
СО-производные аминокислот, мкмоль/мг белка	7.53 ± 0.40	2.39 ± 0.21	1.53 ± 0.06
АОА, усл. ед./мг белка	6.32 ± 0.34	14.57 ± 0.71	1.74 ± 0.15
Активность СОД, усл. ед./мг белка	46.6 ± 2.0	116.0 ± 8.5	1.25 ± 0.24

Таблица 4.5 (продолжение)

Показатели	Старые крысы (30 мес.)		
	Головной мозг	Печень	Сыворотка крови
АФК, усл. ед./мг белка	4.14 ± 0.14	176.9 ± 34.9***	0.19 ± 0.02**
Диеновые конъюгаты, нмоль/мг белка	44.89 ± 1.62	53.2 ± 2.20	5.54 ± 0.34***
Основания Шиффа, усл. ед./мг белка	274.8 ± 13.7***	661.3 ± 31.1*	25.2 ± 1.74*
СО-производные аминокислот, мкмоль/мг белка	7.41 ± 0.34	5.0 ± 0.27**	1.86 ± 0.08***
АОА, усл. ед./мг белка	5.89 ± 0.21	14.18 ± 1.19	1.38 ± 0.06*
Активность СОД, усл. ед./мг белка	24.8 ± 2.8***	48.3 ± 6.4***	0.85 ± 0.04

Примечание. \* —  $p < 0.05$ ; \*\* —  $p < 0.01$ ; \*\*\* —  $p < 0.001$  по сравнению с показателем у молодых крыс. АФК — активные формы кислорода; АОА — общая антиокислительная активность; СОД — Cu, Zn-супероксид дисмутаза.

менений параметров свободнорадикальных процессов наблюдалась в сыворотке крови животных. У старых крыс было отмечено существенное увеличение содержания продуктов перекисного окисления белков и липидов сыворотки крови, а показатели СОД, так же как и антиокислительной активности (АОА), заметно снижались. Что касается уровня генерации АФК, то в печени и в сыворотке крови крыс с возрастом регистрировалось его снижение. Таким образом, уменьшение интенсивности образования АФК в старости происходит параллельно со снижением активности системы анти-

окислительной защиты. В наших экспериментах уменьшению продукции АФК в сыворотке крови и печени также сопутствовало снижение активности СОД — основного компонента ферментативного звена антиоксидантной защиты, препятствующего развитию цепной реакции образования АФК и продуктов перекисидации.

Данные литературы и результаты наших исследований свидетельствуют о том, что мембранные белки являются весьма уязвимой мишенью для действия свободных радикалов при старении. Прежде всего это проявляется в увеличении с возрастом скорости их перекисидации (в сыворотке крови и в печени). Следует отметить, что в головном мозге при старении подобные изменения не наблюдались, что, возможно, обусловлено высокой активностью низкомолекулярных антиоксидантов, поскольку АОА в головном мозге старых крыс не изменялась.

Имеются указания, что в целом активность антиокислительных ферментов ткани головного мозга значительно ниже, чем в других органах (Болдырев, 1998). С возрастом в нем снижается активность цитохромоксидазы нервной ткани, что наряду с высоким уровнем поглощения кислорода тканью мозга способствует усиленной продукции супероксидного радикала (Хавинсон и др., 2003). Подчеркивается, что в силу этих обстоятельств головной мозг является наиболее чувствительным к окислительному стрессу органом в организме.

#### 4.3.4. Функция митохондрий при старении

Митохондрии являются главным источником энергии в клетке. Они имеют собственную митохондриальную ДНК (мтДНК), небольшую кольцевую молекулу, кодирующую 13 полипептидов, 22 тРНК, 2 рРНК, все компоненты дыхательной цепи и сопряженной с ней системы окислительного фосфорилирования. В митохондриях продуцируется АТФ, происходит синтез гема и холестерина, регуляция кальция. Хотя митохондрии являются основным источником АФК, данные о том как много они генерируют  $O_2^-$ , достаточно противоречивы (Beckman, Ames, 1998). Основным источником генерации  $O_2^-$  являются убихинон и НАДН дегидрогеназа. При переносе электронов образуется убисемихинон, который реагирует с кислородом, образуя  $O_2^-$ . При старении макромолекулы митохондрий и изолированные митохондрии старых животных продуцируют больше  $H_2O_2$ , чем митохондрии молодых животных (Beckman, Ames, 1998; Shigenaga et al., 1994).

Митохондриальная ДНК локализована в матриксе, прилежащем к внутренней мембране митохондрий. В мтДНК отсутствуют интроны, гистоны и другие белки ДНК, а также она хуже репарируется, чем ядерная ДНК (ядДНК) (Croteau, Bohr, 1997). Эти свойства определяют большую подверженность мтДНК окислительным повреждениям. Индуцируемые АФК повреждения включают фрагментацию и делецию, маркером которой является 8-окси-дезоксигуанозин (8-ОН-дГ) (Dizdaroglu, 1991). Поскольку мтДНК

кодирует белки цепи переноса электронов и окислительного фосфорилирования, ее окислительное повреждение может приводить к снижению дыхания и фосфорилирования, что усиливает генерацию АФК (Ozawa, 1997).

Фермент поли(АДФ-рибоза)полимераза-1 (PARP-1) играет важную роль в непосредственном ответе клетки на окислительное повреждение ДНК (Burkle, 2000). Способность мононуклеарных лейкоцитов крови к поли-АДФ-рибозилированию хорошо коррелирует с видовой продолжительностью жизни млекопитающих (Grube, Burkle, 1992). У столетних людей способность к полиАДФ-рибозилированию существенно выше, чем в общей популяции (Muiras et al., 1995). PARP-1 контролирует стабильность генома при повреждениях ДНК (Meyer et al., 2000) и модулирует ее уязвимость к атакам эндогенных и экзогенных повреждающих агентов.

С возрастом число митохондрий в клетках уменьшается, их размеры увеличиваются, ухудшается функция митохондрий, а число мутаций мтДНК увеличивается (Solmi et al., 1994).

Наследуемый полиморфизм мтДНК ассоциирован со старением и долголетием (de Benedictis et al., 1999, 2000). Специфическая для фибробластов трансверсия T414G была выявлена у 4 из 6 столетних. Zhang et al. (2003) сообщили, что гомоплазменная транзиция C150T с большей частотой наблюдается в лейкоцитах, полученных от столетних и близнецов, по сравнению с общей популяцией. Среди столетних мужчин в северной Италии значительно чаще встречается гаплотип J, чем у молодых. Этот же самый митохондриальный гаплотип часто представлен при комплексных болезнях (Ross et al., 2001). Полиморфизм мтДНК с разной частотой наблюдается в пожилых популяциях Франции, Италии, Ирландии и Японии (Ivanova et al., 1998; Rose et al., 2001). Исследования в штате Юта (США), в которых использовались данные о генеалогии мормонов, показали, что долголетие наследуется только по материнской мтДНК (Troen, 2003).

Исследования показали, что мтДНК полиморфизм 5178 аденин/цитозин (5178A), мутация для гаплогруппы D мтДНК ассоциирован со старением и долголетием у людей. Yao et al. (2002) генотипировали аллель 5178A в трех возрастных группах людей в провинции Юнань, Китай. Частота 5178A у старых людей (16.84 %) не отличалась существенно от таковой в группах молодых (13.59 %) и детей (15.79 %). G. De Benedictis и соавт. (1999a) нашли, что среди столетних чаще встречается европейский гаплотип J, который был ассоциирован с долголетием и в других исследованиях (Ross et al., 2001; Niemi et al., 2003). Гаплогруппа M мтДНК была ассоциирована с долголетием у японцев (Tanaka et al., 1998). Когда маркеры мтДНК были использованы для сравнения популяций, было обнаружено, что частота гаплогруппы J выше среди столетних, что свидетельствует о том, что мтДНК полиморфизм может играть роль в долголетье (Jansen-Durr, Wick, 2000).

Частота и величина мутаций в мтДНК увеличивается с возрастом, особенно тканях с высоким потреблением энергии (Costopassi, Arnheim, 1990; Melov et al., 1995). Уровень 8-ОН-дГ в мтДНК увеличивается с возрастом

экспоненциально и коррелирует с накоплением мтДНК, имеющих делеции (Nayakawa et al., 1993). Показано, что в скелетных мышцах человека с возрастом накапливаются волокна, в которых отсутствует активность цитохром *c* оксидазы (комплекс IV) (Brierley et al., 1996). Активность митохондриального фермента окислительного фосфорилирования ОХРНOS уменьшается с возрастом в мышцах печени и головном мозге человека и приматов (Boffoli et al., 1999; Trounce et al., 1989; Bowling et al., 1993). Это снижение происходит параллельно возрастному увеличению в сердце и скелетных мышечных волокнах числа фокусов недостаточности СОХ (Brierley et al., 1996), что коррелирует с накоплением мутаций мтДНК, включая различные делеции и замены пар оснований. Имеются данные о тканеспецифическом характере возрастного накопления делеций в митохондриальном геноме (Khrapko et al., 2006; Meissner et al., 2006). Авторы отмечают, что паттерны этих делеций значительно более схожи в одинаковых тканях от разных индивидуумов, чем в разных тканях одного индивидуума.

#### **4.3.5. Корреляции между видовой продолжительностью жизни и интенсивностью окислительных процессов в организме**

Показано, что видовая продолжительность жизни прямо коррелирует с активностью супероксиддисмутазы (СОД), содержанием  $\beta$ -каротина,  $\alpha$ -токоферола и мочевой кислоты в сыворотке крови (табл. 4.6) (Cutler, 1991; Perez-Campo et al., 1998; Varja, 2004, 2007). Более того, у долгоживущих линий *D. melanogaster* экспрессия СОД, каталазы, глутатион редуктазы и ксантин дегидрогеназы была достоверно большей, чем у короткоживущих линий мух (Arkind et al., 1996). Выявлена положительная корреляция между продолжительностью жизни 8 видов млекопитающих и резистентностью их клеток к окислительному стрессу, вызываемому различными агентами (Karahi et al., 1999).

Установлена высокая корреляция между активностью основного обмена, активностью СОД и максимальной продолжительностью жизни у животных 14 видов, включая человека. В этой связи интересно наблюдение, что при повышении температуры происходит усиление образования 8-оксигуанина в ДНК, что свидетельствует том, что нагревание может усиливать окислительный стресс, повышая уровень активных форм кислорода (Bruskov et al., 2002).

Как установили В. А. Гусев и Л. Ф. Панченко (1997), с увеличением видовой продолжительности жизни животных во всех основных органах возрастает соотношение удельной активности СОД к интенсивности основного обмена, который отражает уровень аэробных окислительных процессов и потребления кислорода. Эти авторы также показали, что имеет место зависимость между сроком жизни некоторых форменных элементов крови, активностью в них СОД и их способностью генерировать супероксидный радикал. Так, гранулоциты человека, продолжительность жизни

Таблица 4.6

Сведения о характере корреляции между уровнем антиоксидантов и максимальной продолжительностью жизни у животных (млекопитающих) разных видов (Perez-Campo et al., 1998; Barja, 2004)

Фермент	Печень	Легкие	Мозг
Супероксиддисмутаза	0	–	–
Каталаза	–	–	–
Глутатионпероксидаза	–	–	–
Глутатионредуктаза	–	–	–
Глутатион-SH пероксидаза	–	–	–
Аскорбат	0	–	–

Примечание. 0 — корреляция отсутствует; минус — негативная корреляция.

которых составляет 12—14 часов, имеют низкую удельную активность СОД, тогда как лимфоциты, срок существования которых достигает нескольких лет, не генерируют АФК под воздействием экзогенных факторов и имеют высокую удельную активность СОД. Указанная особенность гранулоцитов позволяет им активно продуцировать супероксидный радикал и другие АФК, благодаря чему реализуются их бактерицидные функции при фагоцитозе.

Следует отметить, что птицы потребляют существенно больше кислорода на единицу веса тела, чем млекопитающие. Полагают, что основное объяснение различий в продолжительности жизни птиц и млекопитающих лежит в различиях в жизненной стратегии этих двух групп животных: млекопитающие используют так называемую *r*-стратегию с короткой продолжительностью жизни и высокой интенсивностью репродукции, тогда как птицы используют *K*-стратегию, характеризующуюся долгой жизнью и коротким репродуктивным периодом (Skulachev, 2004). Выбор последней стратегии может отражать определенные преимущества птиц, которые эволюционно относительно недавно освоили гигантский новый ареал обитания — воздушную среду. Эта философия предполагает, что возрастные митохондриальные повреждения являются результатом действия специальной программы, ограничивающей продолжительность жизни, а не результатом накопления случайных повреждений в живых организмах (Skulachev, 2004).

В табл. 4.7 суммированы данные о корреляции показателей свободнорадикальных процессов и видовой продолжительности жизни (Хавинсон и др., 2003).

G. Barja (2004) полагает, что, несмотря на данные о том, что антиоксиданты оказывают защитный эффект в отношении ряда ассоциированных с



Таблица 4.7

**Корреляция между показателями, характеризующими продукцию свободных радикалов, ПОЛ и антиоксидантную защиту, и видовой продолжительностью жизни (Хавинсон и др., 2003)**

Положительные корреляции	Отрицательные корреляции
<p>Содержание в крови: альфа-токоферола каротиноидов селена церулоплазмина (у приматов) мочевой кислоты холестерина дегидроэпиандростеронсульфата</p> <p>Отношение: удельной активности супероксиддисмутазы печени и других основных органов к интенсивности основного обмена; активности каталазы печени к удельной скорости метаболизма; ингибиторной активности сыворотки крови к ПОЛ гомогенатов мозга</p> <p>Скорость репарации индуцированных дефектов ДНК</p> <p>Активность диаминооксидазы печени</p>	<p>Содержание свободных радикалов в тканях Скорость ПОЛ в гомогенатах мозга (по тесту с ТБК) Скорость индуцированного ПОЛ эритроцитов крови Содержание в крови: перекисей липидов; глутатиона</p> <p>Активность глутатионпероксидазы мозга Активность глутатионпероксидазы печени: общая активность; активность селеносодержащей глутатионпероксидазы; активность глутатион-S-трансферазы</p> <p>Содержание цитохрома С в печени, почках и мозге</p> <p>Удельная скорость метаболизма (кал/сут. на грамм массы тела)</p> <p>Частота хромосомных аберраций</p>

возрастом заболеваний, они не являются фактором, контролирующим скорость старения. В поддержку своей точки зрения он приводит четыре линии доказательств.

Во-первых, в настоящее время убедительно показано, что уровень эндогенных антиоксидантов в тканях организма, включая головной мозг, с возрастом не изменяется (Вагја, 2004).

Во-вторых, теоретически предполагалось, что малая скорость старения долгоживущих видов животных может быть обусловлена более высокой степенью эффективности антиоксидантных защитных систем. Однако фактически обнаружена противоположная зависимость. Большинство имеющихся данных свидетельствует о том, что уровень активности антиокислительных ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов в головном мозге позвоночных отрицательно коррелирует с видовой максимальной продолжительностью жизни (Perez-Campo et al., 1998). Низкий уровень антиоксидантов у долгоживущих видов свидетельствует о том, что скорость генерации АФК *in vivo* у таких видов также должна быть низкой (и ниже, чем у короткоживущих животных), иначе они не могли бы поддерживать тот уровень окислительного стресса, который гомеостатически совместим с поддержанием жизни.

Третьим источником информации являются исследования на млекопитающих, у которых уровень антиоксидантов, содержащихся в норме в го-

ловном мозге и других тканях, повышался с помощью антиоксидантов, вводимых в виде фармакологических препаратов или с помощью генетических манипуляций (Huang et al., 2000; Barja, 2004; Anisimov, 2006; подробнее см. главы 12 и 15). Основной вывод этих работ состоит в том, что максимальная продолжительность жизни остается неизменной (Barja, 2004). Эти наблюдения соответствуют результатам, полученным на беспозвоночных. Анализ показал, что у насекомых увеличение максимальной продолжительности жизни при введении антиоксидантов имело место только в случае использования короткоживущих линий.

И наконец, четвертая линия доказательств происходит из данных по выключению генов, которые кодируют некоторые антиоксиданты. У таких животных развиваются различные патологические процессы, но скорость старения не изменяется (Ho et al., 1997; Melov et al., 2000, глава 12).

В большинстве экспериментов применение антиоксидантов или индукция защитных систем увеличивали среднюю продолжительность жизни животных, что свидетельствует в пользу предположения, что антиоксиданты неспецифически предупреждают ранние смерти, особенно в случаях, когда эксперименты проводятся в субоптимальных условиях. В то же время отсутствие эффекта влияния антиоксидантов на максимальную продолжительность жизни свидетельствует о том, что они не замедляют скорость эндогенного процесса старения. Такой точки зрения придерживался R. Kohn (1971).

Моделью для проверки свободнорадикальной теории старения могут быть крысы линии S Wistar, которые чувствительны к индукции катаракты галактозой. Наследуемое увеличение захвата клетками гексозы приводит к продукции АФК, что сопровождается усилением ПОЛ, дисфункцией митохондрий, ускоренным развитием ассоциированных с возрастом дегенеративных заболеваний и более быстрому старению по сравнению с резистентными к галактозе крысами R линии Wistar (Salganik et al., 1994). Активность СОД и каталазы у крыс линии S составляла половину от таковой у крыс линии R, что объясняет увеличение окислительного повреждения белков (Yelina et al., 1996). У крыс OXYS с ускоренным старением выявлены дисфункция митохондрий и нарушения поведения, свойственные нейродегенеративным заболеваниям (Колосова и др., 2001).

В пользу свободнорадикальной теории старения говорят эксперименты, в которых трансгенные линии *D. melanogaster* с дополнительными копиями генов, обеспечивающих избыточную активность СОД и каталазы, жили на 20—37 % дольше контрольных мух, тогда как мухи с избыточными копиями генов лишь одного из этих ферментов антиокислительной защиты таким эффектом не обладали (Orr, Sohal, 1994). Трансгенные дрозофилы с избыточной экспрессией гена *SOD1* в мотонейронах жили на 40 % дольше и были значительно устойчивее к окислительному стрессу, чем мухи, не имевшие этого гена (Parkes et al., 1998).

Следует отметить, что степень прироста средней продолжительности жизни в популяции трансгенных плодовых мух отрицательно коррелирует

со средней продолжительностью жизни у контрольных мух, при этом чем больше она была в контрольной группе, тем меньше был ее прирост у трансгенных животных (Orr, Sohal, 2003). У мух с нормальной продолжительностью жизни влияние дополнительных копий СОД было незначительным или даже укорачивало продолжительность жизни. Эти данные не подтверждают роли окислительного стресса в развитии естественного старения.

#### 4.3.6. Антиоксиданты как геропротекторы

Витамин Е, мелатонин, хелатные агенты и некоторые синтетические антиоксиданты увеличивали продолжительность жизни не только дрозофил, но и лабораторных мышей и крыс (Обухова, Эмануэль, 1983; Harman, 2006; Газиев и др., 1997; Anisimov, 2006) (см. главу 15). На модели экспериментальной мозговой ишемии установлено, что применение карнозина существенно уменьшает смертность и улучшает функцию мозга у крыс. При ишемии сердца карнозин защищает кардиомиоциты от повреждения и улучшает сократимость сердечной мышцы. В механизме защитного действия карнозина важную роль играют его антиоксидантная активность, способность защищать мембраны, образовывать комплексы с переходными металлами и регулировать функцию макрофагов (Болдырев, 1998).

Следует заметить, что длительное применение антиоксидантов может приводить к развитию неблагоприятных побочных эффектов, вплоть до развития опухолей (см. главу 15). Поэтому неудивительно, что применение антиоксидантов в обычных условиях подчас малоэффективно, тогда как их назначение в условиях патологии, сопровождающейся увеличенной генерацией АФК, бывает весьма успешно. Заслуживает внимания точка зрения, что антиоксиданты не замедляют собственно процесса старения, а угнетают некоторые факторы внешней среды, снижающие выживаемость контрольных животных (например, уменьшая количество свободных радикалов в норме) (Kohn, 1971).

Однако то обстоятельство, что продукты взаимодействия АФК с макромолекулами постоянно обнаруживаются в органах и тканях организма, свидетельствует о том, что системы антиоксидантной защиты недостаточно эффективны и что клетки постоянно подвергаются окислительному стрессу. Противодействие ему может играть существенную роль в механизме геропротекторного действия эндогенных и экзогенных антиоксидантов (см. главу 15).

#### 4.4. ВОЗРАСТ И ЧАСТОТА МУТАЦИЙ

Все, что может испортиться — портится,  
Все, что испортиться не может — пор-  
тится тоже.

*Эффекты Чизхолма*

Среди современных теорий старения, основанных на предположении, что ДНК является основной мишенью в клетке, доминирует теория соматических мутаций, согласно которой старение является результатом взаимодействия различных эндогенных и экзогенных повреждающих агентов с генетическим материалом клетки и постепенного накопления случайных мутаций в геноме соматических клеток (Morley, 1995; Vijg, 2000, 2004; Розенфельд, 2001; Gorbunova, Seluyanov, 2005). Впечатляет разнообразие количества и типов повреждений ДНК. Оно включает разрывы одной или двух нитей ДНК, депуринизацию, депиримидинацию, деаминирование цитозина, межнитевые сшивки и множество аддуктов, часть из которых еще не установлена. Подсчитано, что *in vivo* долгоживущая клетка человека теряет  $\sim 10^4$  пуринов в день и несколько процентов этих пуриновых остатков за десятилетия жизни человека. Хотя процесс репарации ДНК обеспечивают примерно 150 генов, соматические мутации накапливаются с возрастом и очевидным образом связаны со злокачественной неоплазией. Количественный аспект накопления мутаций также впечатляет. Так, в случае рака толстой кишки в одной типичной раковой клетке выявляется  $3.3 \times 10^4$  инсерций, делеций и транслокаций (Martin, 2007). Эти расчеты позволяют полагать, что ключевым событием в развитии злокачественного роста является так называемый мутационный фенотип. Скорость накопления точечных мутаций в стареющих неопухольевых тканях была измерена в нескольких тканях. Интересно, что мутации быстрее накапливались в эпителиальных тканях, чем в лимфоидной (Martin, 2007).

Повреждения ядерной и митохондриальной ДНК соматических клеток, такие как точечные мутации, делеции и транслокации, приводят к активации или инактивации специфических генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла и контроль роста. В табл. 4.8 приведены данные об интенсивности эндогенных повреждений ДНК клеток млекопитающих.

Накопление с возрастом таких мутаций в различных органах и тканях является основным фактором, определяющим развитие возрастной патологии, включая рак (Bernstein, Bernstein, 1991; Газиев и др., 1994; Vijg, 2000, 2004; Vijg, Dolle, 2002). При изучении с помощью FISH-метода хромосомных повреждений (транслокаций и дицентриков) в лимфоцитах доноров и лиц в возрасте от 4 до 85 лет, подвергшихся неконтролируемому облучению в низких дозах за 1—4 года до исследования, установлено более быстрое увеличение с возрастом стабильных повреждений в хромосомах у облученных людей (Воробцова и соавт., 1999). Исследование функциональных особенностей хромосом при старении показало, что снижение интенсивно-

Таблица 4.8

**Интенсивность эндогенных повреждений ДНК  
в клетках млекопитающих (Bernstein, Bernstein, 1991)**

Повреждение	Число событий на 1 клетку в день
Депуринизация	12000—13920
Депиримидинизация	600—696
Деаминирование цитозина	192
Однонитевые разрывы	55200
O <sup>6</sup> -метилгуанин	3120
Аддукт глюкозо-6-фосфата	2.7
Тиминовый гликоль	270
Тимидиновый гликоль	70
Оксиметилурацил	620
8-оксидезоксигуанозин	Неизвестно
Двунитевые разрывы ДНК	8.8
Межнитевые перекрестные сшивки	8.0
Сшивки ДНК—белок	Неизвестно

сти репарации ДНК и повышение частоты мутаций в глубокой старости являются вторичными по отношению к гетерохроматинизации (конденсации эу- и гетерохроматических районов хромосом) (Лежава, 2001).

В клетках человека различного гистогенеза, стареющих *in vitro*, наблюдали накопление мутаций, связанных с двойными разрывами цепи ДНК (Sedelnikova et al., 2004). В этой же работе сообщается о возрастном накоплении таких мутаций в криптах. Авторы полагают, что аккумуляция мутаций играет важную роль как в клеточном старении, так и в старении *in vivo*.

Представляется весьма существенным вывод о неодинаковой динамике накопления соматических мутаций в различных органах и тканях. На трансгенных мышях, несущих шаттл-вектор LacZ, было установлено, что увеличение частоты соматических мутаций в печени происходит равномерно с рождения до глубокой старости, тогда как в головном мозге она нарастает только от рождения до 4—6 мес. жизни, а затем не изменяется. Перестройки генома постепенно накапливаются в печени до 27-месячного возраста, после чего их число резко увеличивается. В головном мозге геномные перестройки встречаются значительно реже и с возрастом их частота не увеличивается (Dolle et al., 2000).

В табл. 4.9 суммированы результаты изучения возрастной динамики мутаций в различных органах трансгенных мышей различных линий (Ono et al., 2002). Можно видеть, что частота мутаций увеличивается с возрастом во многих тканях, однако степень этого увеличения существенно варьирует. Наибольшая частота мутаций отмечена в клетках тонкой кишки и мочевого пузыря старых мышей. Важно отметить, что степень возрастного увеличе-

**Таблица 4.9**  
**Возрастное увеличение частоты спонтанных мутаций\***  
**у трансгенных мышей трех линий (Ono et al., 2002, с изменениями)**

Орган	Линия мышей, трансген		
	Muta, $\lambda lacZ$	Line60, $lacZ$	Big-Blue, $\lambda lacI$
Селезенка	++	НД**	++
Печень	++	+	++
Мозг	+	—	—
Сердце	++	++	НД
Кожа	+	НД	НД
Тонкая кишка	+++	+++	НД
Мочевой пузырь	+	НД	+++
Яички	+	—	+++

Примечание. \* — рассчитывали отношение частоты мутаций в возрасте 2 лет к таковой у 2-месячных животных и оценивали его в баллах: (—) — отсутствие мутаций, + — увеличение менее чем в 2 раза, ++ — увеличение в 2—3 раза, +++ — увеличение более чем в 3 раза. \*\* — нет данных.

ния частоты спонтанных мутаций не коррелирует с пролиферативной активностью тканей. Так, относительно мало мутаций накапливается в коже и яичках, которые содержат быстро пролиферирующие клетки, тогда как в сердце и печени, состоящих из непролиферирующих или мало пролиферирующих клеток, скорость их накопления довольно значительна.

М. S. Turker и соавт. (2007) исследовали возрастную динамику частоты и спектра аутосомальных мутаций в эпителиальных клетках почки и мезенхимальных клетках уха у мышей B6D2F1, гетерозиготных по локусу *Aprt*. Частота мутаций по этому локусу с возрастом увеличивалась в почках, причем она была в два раза выше у самок, что соответствовало более короткой продолжительности жизни самок по сравнению с самцами. В клетках уха самок также наблюдалось возрастное увеличение частоты мутаций, однако у самцов оно не выявлялось. Молекулярный анализ показал, что в клетках почки и уха спектр мутаций существенно различается, при этом с возрастом не происходит значимых изменений в спектре спонтанных мутаций.

В наших опытах была изучена возрастная динамика спонтанных хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и сперматоцитах I у самцов мышей линий SHR, CBA, C57 BL/6-TgN(hREN)9Slg, C57 BL/6J-TgN(alb 1 HBV)44 Bri, FVB/NJ (ErbB-2/neu) и FVB/NJ-Trp 53<tmlTyuj> (Розенфельд и др., 2001). Была обнаружена положительная динамика частоты хромосомных aberrаций (ХА) при старении во всех данных линиях (табл. 4.10).

Для линии SHR достоверный рост значений частот ХА в клетках костного мозга отмечен в возрасте от 6 до 9, от 9 до 12 мес. и от 12 до 24 мес. В линии CBA отмечено достоверное увеличение частот ХА от 3 до 6 месяцев, от 9 до 12, а также от 12 до 24 мес. При анализе динамики частот ХА

Таблица 4.10

Частота спонтанных хромосомных aberrаций (ХА) в клетках костного мозга и сперматоцитах I у самцов мышей разных линий при старении

Линия мышей	Возраст, мес.				
	3	6	9	12	24
<b>Частота ХА в клетках костного мозга, %</b>					
SHR	2.9 ± 0.20	3.6 ± 0.24	5.4 ± 0.19*	8.5 ± 0.14*	10.2 ± 0.35*
CBA	3.1 ± 0.15	6.4 ± 0.30*#	7.5 ± 0.12	8.9 ± 0.24*	12.3 ± 0.19*#
FVB (erbB-2/neu)	5.3 ± 0.14#	6.1 ± 0.13#			
FVB (p53 <sup>-/+</sup> )	4.8 ± 0.09#	6.7 ± 0.14*#	10.5 ± 0.15*		
C57BL/6J (HBV)	6.0 ± 0.10#			8.6 ± 0.21*	
C57BL/6 (hREN)	3.8 ± 0.12#			7.8 ± 0.14*	
<b>Частота ХА в сперматоцитах I, %</b>					
SHR	4.8 ± 0.41	5.6 ± 0.36	7.2 ± 0.25*	7.5 ± 0.23	12.1 ± 0.31*
CBA	5.3 ± 0.21	6.9 ± 0.16*#	9.3 ± 0.12*#	10.1 ± 0.18*#	14.3 ± 0.13*#
FVB (erbB-2/neu)	7.9 ± 0.14#	8.3 ± 0.19#			
FVB (p53 <sup>-/+</sup> )	6.8 ± 0.22#	7.5 ± 0.25#	9.6 ± 0.13*#		
C57BL/6J (HBV)	7.8 ± 0.15#			9.4 ± 0.12*#	
C57BL/6 (hREN)	5.9 ± 0.23			8.8 ± 0.18*#	

Примечание. \* — различие достоверно по сравнению со значением частоты хромосомных aberrаций в группе животных предыдущего возраста данной линии ( $p < 0.05$ ); # — различие достоверно по сравнению со значением частоты хромосомных aberrаций в линии SHR для животных данного возраста ( $p < 0.05$ ).

при старении в сперматоцитах I у изучаемых линий SHR и CBA обнаружена такая же тенденция, как и для соматических клеток. Показан рост значений ХА с возрастом, причем для линии SHR достоверным оказалось только увеличение частоты ХА от 6 до 9 и от 12 до 24 мес., а для линии CBA — от 3 до 6, от 6 до 9, от 9 до 12 и от 12 до 24 мес. Более высокие значения частоты ХА для каждого возраста по сравнению с частотой в соматических клетках объясняются, видимо, тем, что пре- и мейотические клетки млекопитающих обладают высокой генетической чувствительностью к мутагенным факторам, которые могут действовать на животных в течение их жизни.

Если провести сравнение данных линий по значениям частот ХА в клетках костного мозга, то можно заметить более высокий уровень спонтанного мутирования при старении у мышей линии CBA. Это хорошо согласуется с тем фактом, что линия CBA является высококорактовой, так как у самок этой линии с частотой до 22 % возникают опухоли молочных желез (Anisimov, 1987).

Для линий трансгенных мышей FVB/NJ(ErbB-2), FVB/NJ(Trp53), C57BL/6 (hREN) и C57BL/6J (alb 1 HBV) сохранялась тенденция увеличения значений частоты ХА в соматических и половых клетках при старении (Розенфельд и др., 2001). Однако эти значения для половых клеток сопоста-

вимы между собой или с частотой у линии СВА, но достоверно отличаются от значений частоты ХА у линии SHR. Исключение составляет случай для 3-месячных мышей со встроенным геном ренина. Для 12-месячных мышей достоверных различий между значениями частоты ХА в соматических клетках между линиями трансгенных мышей и линией SHR не обнаружено.

В отличие от динамики мутирования эндогенов у мышей в случае трансгенных животных складывается несколько другая ситуация. Если провести сравнение частот ХА для молодых (3 мес.) и старых животных (12 мес.), то можно обнаружить, что значения частот между трансгенными мышцами и SHR меньше различаются в случае старых животных. При этом значения ХА для линий, несущих чужеродные гены EтbВ-2, р53 или HBV, различаются с частотами для линии SHR больше, чем при сравнении линий SHR и линии со встроенным геном REN. Ранее было показано, что у мышей, несущих встроенные гены (*lac I*, *lacZ*, *hprt*, *Dlb-1*) наибольшая частота мутаций в этих генах наблюдалась в молодом возрасте (Dolle et al., 2002). Аналогичная ситуация описана для клеток головного мозга у трансгенных мышей, несущих шаттл-вектор *LacZ*. Показан рост частоты мутаций у этих животных до 4—6-месячного возраста. Для клеток печени той же линии установлено, что увеличение частоты мутаций в них происходит равномерно с рождения до старости.

Таким образом, было показано, что у трансгенных мышей, так же как и у контрольных линий животных, существует сходная положительная динамика увеличения частоты хромосомных aberrаций в соматических и половых клетках при старении. При этом у молодых трансгенных мышей частоты хромосомных aberrаций больше различаются со значением частоты ХА в контроле, чем у старых мышей, особенно в соматических клетках.

В сердце и тонкой кишке мышей в молодом возрасте характер и спектр мутаций практически идентичен и представлен в основном транзициями ГЦ>АТ и 1-bp делециями, тогда как у старых мышей характер мутаций в этих органах был различен. В тонкой кишке накапливались только точковые мутации, включая ГЦ>ГА, ГЦ>ЦГ и АТ>ГЦ трансверсии и ГЦ→АТ транзиции, тогда как в сердце старых мышей около половины всех мутаций были представлены большими геномными перестройками, вовлекающими до 34 сантиморганов хромосомной ДНК. Остальные же мутации, аккумулирующиеся в сердце, были представлены транзициями ГЦ→АТ в локусах CpG (Dolle et al., 2000). Наибольшая интенсивность возникновения спонтанных хромосомных повреждений наблюдается в молодом возрасте, а по мере старения темп спонтанного мутагенеза снижается. Интересно, что нокаутные *Trp53<sup>-/-</sup>* мыши, погибающие обычно до возраста 6 мес. от рака, накапливали мутации в селезенке и в меньшей степени в печени быстрее, чем мыши дикого типа или гетерозиготы (Giese et al., 2002).

Было установлено, что в нормальных тканях человека накапливаются клонально распространяющиеся мутации митохондриальной ДНК (мтДНК). Обнаружение делеций мтДНК в мышцах человека, так же как доказательства частичного удвоения мтДНК в тканях пожилых людей, позво-



ляют предполагать важную роль клональной экспансии мутированной мтДНК в возрастном увеличении системного окислительного стресса в целом организме (Khrapko et al., 2006).

Расчеты показали, что у мышей линии C57BL/6 в митохондриях головного мозга частота мутаций достигает  $2.7 \times 10^{-8}$ /мтДНК/сут., тогда как в печени  $3.2 \times 10^{-9}$ /мтДНК/сут. (Mao et al., 2006). В соответствии с математической моделью авторов у мышей этой линии существенного накопления митохондриальных мутаций не наблюдается до возраста 600 дней, что позволяет предполагать, что на протяжении периода развития и репродукции митохондриальный геном остается практически интактным. В возрасте 800 дней, когда у мышей C57BL/6 имеет место 50 % выживаемость, популяция митохондрий может содержать до 30 % интактных и 70 % поврежденных митохондрий. Большая частота мутаций в головном мозге мышей может быть обусловлена значительно большей оксигенацией мозга по сравнению с печенью.

Вместе с тем появились данные, которые заставляют усомниться в ключевой роли митохондриальных мутаций в развитии старения. Используя новый высокочувствительный метод выявления мутаций, M. Vermulst и соавт. (2007) обнаружили, что при естественном старении мышей в тканях головного мозга и сердца мышей частота мутаций хотя и повышается многократно (в 11 раз), однако не достигает уровня, необходимого для ускорения старения. У мутантных гетерозиготных мышей с дефицитом ДНК полимеры  $\gamma$  (*Polg<sup>+mut</sup>*) не наблюдалось ускорения старения, несмотря на 500-кратное превышение частоты митохондриальных мутаций в тканях.

#### 4.5. ВОЗРАСТ И РЕПАРАЦИЯ ДНК

Лишь одно на земле постоянно,  
словно свет звезды, что ушла, —  
продолжающееся сиянье, назы-  
вали его душа.

*Андрей Вознесенский*

Одной из причин накопления повреждений ДНК с возрастом может быть снижение эффективности систем ее репарации. В ряде работ установлена положительная корреляция между продолжительностью жизни вида и скоростью репарации ДНК, поврежденной ультрафиолетовым светом или ионизирующей радиацией (Burkle, 2002). Большой интерес представляют данные о видовых различиях в специфической репарации ДНК, поврежденной алкилирующими агентами, в частности о различиях в скорости удаления из ДНК промутагенного основания O<sup>6</sup>-метилгуанина. Оказалось, что печень человека примерно в 10 раз быстрее удаляет O<sup>6</sup>-метилгуанин, чем печень крысы. Значительно быстрее O<sup>6</sup>-метилгуанин элиминировался также

из лимфоцитов и фибробластов человека, чем из аналогичных тканей мыши (Likhachev, 1990). Эти наблюдения позволяют предполагать меньшую чувствительность человека к канцерогенному действию нитрозосоединений.

Другой причиной различий в продолжительности жизни животных разных видов могли бы быть различия в толерантности к молекулярным повреждениям. Ж. А. Медведев предположил, что повторность генов (множественность копий) может быть важным фактором долголетия, поскольку повреждения уникальных генов более вероятно будут способствовать их суммации и преждевременному старению (Medvedev, 1972). Однако R. Cutler (1991) не обнаружил четкой связи между числом повторов и долголетием или между избыточностью рибосомальных генов и скоростью старения. Вместе с тем, рассматривая гены, служащие матрицами для синтеза мРНК в мозгу человека, коровы и мыши, он нашел, что в среднем избыточность этих генов у человека больше, чем у коровы, а у коровы больше, чем у мыши. Представленные данные позволяют заключить, что у долгоживущих видов механизмы, защищающие генетический аппарат клетки от поврежденных, по-видимому, более совершенны, чем у короткоживущих видов.

В табл. 4.11 суммированы данные о генах, участвующих в метаболизме ДНК и его репарации. Можно видеть, что ряд генов определяет развитие таких синдромов ускоренного старения как прогерия Вернера, синдром Хатчинсона—Гилфорда, синдром Кокейна и др. (см. главу 3), а также таких заболеваний, характеризующихся дефектами репарации ДНК, как пигментная ксеродерма и атаксия телангиоэктазия.

Большой интерес представляют данные о возрастных изменениях репарации различных типов повреждений ДНК. В исследованиях А. И. Газиева и соавт. (1981) было показано, что в клетках старых (18—22 мес.) мышей линии А/Не и СЗН/Sp уровень неингибированного оксимочевинной синтеза (репаративный синтез) в 2 раза ниже, чем у молодых (1.5—2 мес.). При  $\gamma$ -облучении мышей разного возраста репаративный синтез увеличивается в 2—3 раза по сравнению с контролем. Авторы установили, что дело не в снижении активности ферментов репарации ДНК, поврежденной радиацией, а в степени доступности для ферментов этих повреждений ДНК в составе хроматина клеток. Об этом же свидетельствует и возрастное снижение релаксируемости нуклеотида ядер печени мышей при сравнении молодых и старых  $\gamma$ -облученных животных (Газиев и др., 1981). При амплификации фрагментов транскрибируемых ( $\beta$ -актин, р53) и нетранскрибируемых (тяжелой цепи иммуноглобулина IgE) генов в ДНК мозга и селезенки  $\gamma$ -облученных и необлученных крыс в возрасте 2 и 28 мес., было установлено, что степень амплификации фрагментов этих генов в ДНК старых крыс была существенно ниже, чем у молодых крыс. Репарация повреждений ДНК в мозге крыс разного возраста не отличалась в течение 30 мин. после облучения (быстрая фаза репарации), но была существенно замедлена в последующие 5 часов (медленная фаза репарации) в мозге старых крыс (Ploskonosova et al., 1999).

Было показано, что радиационная повреждаемость ДНК стволовых клеток кишечного эпителия мышей разных линий и возраста примерно одина-

Таблица 4.11

Гены, участвующие в метаболизме и репарации ДНК, и их роль в старении (de Magalhaes, 2005, с изменениями)\*

Ген	Вид	Функция	Фенотип
<i>ATM</i>	<i>M. musculus</i>	Распознавание поврежденного ДНК	Мутации могут ускорять старение
<i>ATM</i>	<i>H. sapiens</i>	То же	Атаксия телангиоэктазия
<i>CKN1</i>	<i>H. sapiens</i>	Репарация ДНК	Синдром Кокейна, тип 1; преждевременное старение
<i>clk-1</i>	<i>C. elegans</i>	Регуляция транскрипции	Мутации увеличивают ПЖ
<i>DNA-PK</i>	<i>M. musculus</i>	Репарация ДНК	Выраженный комбинированный иммунодефицит
<i>Ercc1</i>	<i>M. musculus</i>	» »	Разрыв может ускорять старение
<i>Histone deacetylase 1</i>	<i>D. melanogaster</i>	Регуляция транскрипции	Увеличение ПЖ у гетерозиготов
<i>Lamin 1</i>	<i>H. sapiens</i>	Неясна; возможно вовлечен в метаболизм ДНК	Синдром Хатчинсона—Гилфорда, преждевременное старение
<i>Nibrin</i>	<i>H. sapiens</i>	Репарация двунитевых разрывов ДНК	Синдром Ниджмегена
<i>p53</i>	<i>M. musculus</i>	Опухолевый супрессор	Ускорение старения у гетерозиготных мутантов
<i>p53</i>	<i>H. sapiens</i>	» »	Герминативные мутации вызывают синдром Ли—Фраумени
<i>PARP</i>	<i>Mammals</i>	Репарация ДНК	Корреляция между уровнем <i>PARP</i> и ПЖ
<i>PASG</i>	<i>M. musculus</i>	Метилирование ДНК и, возможно, репарация ДНК	Ассоциированный с пролиферацией SNF2-подобный ген
<i>Sir-2</i>	<i>C. elegans</i>	Эпигенетический генный глушитель	Увеличение дозы увеличивает ПЖ
<i>Sirtuin 1</i>	<i>M. musculus</i>	Гомолог <i>Sir-2</i>	Нокаутные мыши умирают вскоре после рождения
<i>Terc</i>	<i>M. musculus</i>	Удлиняет теломеру	Мутации могут ускорять старение
<i>Terc</i>	<i>H. sapiens</i>	» »	Мутации вызывают наследственный дискератоз
<i>top3b</i>	<i>M. musculus</i>	ДНК топоизомераза III бета; структура хромосом	Разрыв уменьшает ПЖ, возможно не влияет на старение
<i>WRN</i>	<i>H. sapiens</i>	Геликаза и экзонуклеаза	Синдром Вернера, ускоренное старение
<i>XPD</i>	<i>M. musculus</i>	Репарация ДНК	Мутации могут ускорять старение
<i>XPD</i>	<i>H. sapiens</i>	» »	Пигментная ксеродерма, группа Д

Примечание. \* — полную библиографию см. главу 3, а также: de Magalhaes, 2005.

кова, однако скорость репарации этих повреждений с возрастом снижается. Способность диплоидных фибробластов человека к репарации индуцированных  $\gamma$ -излучением однонитевых разрывов ДНК достоверно снижается с увеличением возраста донора (см.: Anisimov, 1987). В ряде работ оценивалось влияние возраста донора на интенсивность внепланового синтеза ДНК в клетках человека, подвергнутых *in vitro* УФ облучению. В. Lambert и соавт. (1979) нашли отрицательную корреляцию между возрастом и величиной внепланового синтеза ДНК (ВСД) в лейкоцитах периферической крови 58 здоровых субъектов 13—94 лет. Авторы отметили сильные индивидуальные колебания величины ВСД. Было обнаружено также ослабление индуцированного УФ светом репаративного синтеза в лимфоцитах человека с возрастом и в глубокой старости.

Способность CD<sup>4+</sup> Т-клеток периферической крови репарировать мутации типа замены пар оснований, индуцированные акридиновым мутагеном (ICR-191), снижалась между 29 и 45-м годами жизни людей, однако была ненарушенной у 80-летних здоровых лиц, наблюдаемых в проекте SENIEUR (Annett et al., 2005).

В последние годы значительное внимание уделялось изучению репарации повреждений ДНК, вызываемых свободными радикалами (окислительным стрессом). Несмотря на множественность путей репарации окислительных повреждений ДНК, которые весьма консервативны как у эукариотов, так и у прокариотов, однонитевые разрывы ДНК и потери оснований ДНК репарируются главным образом путем эксцизионной репарации оснований. Этот процесс начинается с вырезания поврежденных оснований ДНК гликозилазами, обладающими большой широтой субстратной специфичности. У млекопитающих идентифицированы две гликозилазы, репарирующие повреждения ДНК, вызываемые окислительным стрессом. Это 8-оксогуанин-ДНК гликозилаза (OGG1) и тимидин гликол-ДНК гликозилаза (NTH1). OGG1 вырезает в первую очередь 8-оксогуанин (8-охоG) и гуанин с открытым кольцом (FapyG), тогда как NTH1 преимущественно гидролизует различные окисленные или поврежденные пурины, такие как 5-гидроксиурацил (5-HU), тимидин гликол и 5-гидроксицитозин. На следующем этапе репарации у млекопитающих активную роль играют апуриновые эндонуклеазы (APE). Эти эндонуклеазы продуцируют 3'-ОН конец ДНК, который используется в качестве праймера ДНК полимеразой на следующем этапе эксцизионной репарации. Было установлено, что в ядрах гепатоцитов 24-месячных мышей содержится в три раза больше 8-охоG, чем в гепатоцитах 4-месячных животных, при этом у старых животных была выше активность OGG1 (Szczesny et al., 2004). Авторы также обнаружили, что возрастное снижение активности гликозилазы OGG1- $\beta$  способствует накоплению 8-охоG в митохондриальной ДНК.

В табл. 4.12 суммированы данные о влиянии возраста на эффективность репарации ДНК при различных типах повреждений. Можно видеть, что репарация ДНК зависит как от вида животных, типа повреждающего агента и вызываемого им повреждения, так и от ткани мишени. Следует отметить,

Таблица 4.12

Влияние возраста на эффективность репарации различных типов повреждений ДНК в разных тканях (Anisimov, 1987, с дополнениями)

Повреждающий агент	Ткань-мишень	Вид животных	Сравнимые возрастные группы	Эффект старения
<b>Пиримидиновые димеры</b>				
УФ облучение	Лимфоциты	Человек	13—94 лет	↓
	Эпидермис		17—77 лет	↓
	Почка		30—82 года	=
	Печень	Крыса	6 и 14 мес. 14 и 32 мес.	↑ ↓
	Эпителий хрусталика	Крыса	14 и 40 мес.	=
	Почка, легкое	Хомячок	1 и 17	=
	Мозг, печень		1—2 и 18	=
<b>Разрывы нитей ДНК</b>				
Рентгеновское облучение	Лимфоциты	Человек	0—70	↓
	Мозжечок	Собака	1.5 мес. и 13 лет	=
		Мышь	2 и 22 мес.	=
γ-облучение	Лимфоциты	Человек	0—70	↓
	Печень	Мышь	2 и 18—22 мес.	↓
	Тимус	»	1 и 18 мес.	=
Электроны	Кожа	Крыса	1—6 и 13 мес.	↓
<b>Апуриновые сайты</b>				
N-ОН-2-ААФ	Лимфоциты	Человек	0—10 и 51—60 лет	↓
			50—60 и 71—80 лет	=
НЭМ	Ганглии сетчатки	Крыса	1—6 и 23	=
НЭМ	Фибробласты		3 нед. и 2 года	↓
НММ	Кожа, легкое, мозг, сердце, селезенка, гонады		6 и 24—26 мес.	↓
	Печень, почка, 12-перстная кишка, мышцы		6 и 24—26 мес.	=
ДМГ	Толстая кишка		3—4 и 13—15 мес.	↓
МАМНА	Толстая кишка, тонкая кишка, легкое, печень, матка		3 и 14 мес.	↓
ДМБА	Эпителий молочной железы		1.5 мес. и 5 мес.	↑
<b>Алкилирование гуанина в O<sup>6</sup> положении</b>				
ДЭНА	Печень	Крыса	3 и 14 мес.	↓
	Почка			↑
МАНМА	Печень			↑
	Толстая кишка, тонкая кишка			↓
	Легкое			=

Примечание. N-ОН-2-ААФ — N-ОН-2-ацетиламинофлюорен; ДМБА — 7,12-диметилбенз(а)антрацен; ДЭНА — N-нитрозодиэтиламин; НММ — N-нитрозометилмочевина; НЭМ — N-нитрозоэтилмочевина; МАМНА — N-метил(ацетоксиметил)нитрозамин.

что в Т-лимфоцитах пожилых (85 лет и старше) «успешно» стареющих доноров (проект SENIEUR) эффективность репарации ДНК при повреждениях, вызванных  $H_2O_2$ , N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидином или УФ облучением, была практически такой же, как в клетках более молодых доноров (Annett et al., 2004).

#### 4.6. ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ГЕНОВ ПРИ СТАРЕНИИ

Однако свой у времени отсчет...

*Франческо Петрарка*

При старении может изменяться не только структура генов, но и направление их функционирования. С возрастом в соматических клетках накапливаются не только мутации, но и хромосомные перестройки (Vijg, 2000; Vijg, Dolle, 2002). Полагают, что изменения хроматина могут играть главную роль в связанных с возрастом изменениях регуляции экспрессии генов (Medvedev, 1984). С увеличением возраста не отмечено изменений стехиометрии большинства гистонов, однако имеются сообщения об изменении подвида гистона H1 (Medvedev, 1984). Ацетилирование гистонов, которое предположительно изменяет взаимодействие гистон—ДНК и делает ДНК более доступной, снижается по мере старения на 30—70 %. Важную роль в увеличении продолжительности жизни, как это показано в опытах на дрожжах и *C. elegans*, играют деацетилазы гистонов, в частности SIR2 и RPD3 (Chang, Min, 2002).

Большинство повреждений ДНК репарируется, но не все. Так, у крыс происходит  $10^5$  окислительных повреждений ДНК в день в расчете на клетку. Когда скорость репарации не достигает скорости индукции повреждений, происходит увеличение спонтанных повреждений ДНК с возрастом (Vijg, 2000). Точная оценка способности организма восстанавливать специфические повреждения затруднена и часто бывает ошибочной. В большинстве исследований возможного снижения репаративной активности ДНК с возрастом были использованы способы, с помощью которых оценивается фаза синтеза ДНК при эксцизионной репарации. Главный вывод из этих работ, выполненных преимущественно на культуре клеток, состоит в том, что эффективность репаративных систем ДНК не снижается с возрастом (Likhachev, 1990). Однако нельзя исключить, что при старении репарационные системы ДНК становятся более подверженными ошибкам, приводящим к усилению индукции мутаций (Anisimov et al., 1993; Vijg, 2000). В любом случае определенная степень несовершенства является главной чертой системы репарации ДНК, на что указывало фактическое накопление как повреждений ДНК, так и изменение последовательности ДНК. В последние годы было опубликовано несколько обзорных работ, в которых обсуждается влияние возраста на транскрипцию и трансляцию. Установлено, что в це-

лом транскрипционная активность клетки при старении организма снижается. Однако уровень общей РНК остается постоянным за счет снижения скорости обновления РНК. В большинстве исследований была найдена хорошая корреляция между связанными с возрастом изменениями уровней видов мРНК и уровнем белка (или энзиматической активностью), обусловленным различными видами мРНК. Это было показано на печени крыс в отношении альбумина, альфа(2μ)-глобулина и супероксиддисмутазы и каталазы. Связанное с возрастом уменьшение индукции митогенами мРНК интерлейкина 2 (ИЛ-2) в лимфоцитах грызунов и человека соответствует возрастному снижению биологической активности этих двух интерлейкинов (Roy et al., 2002).

### Литература

- Анисимов В. Н., Арутюнян А. В., Опарина Т. И. и др. Возрастные изменения активности свободнорадикальных процессов в тканях и сыворотке крови крыс // Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова. 1999. Т. 84. С. 502—507.
- Болдырев А. А. Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине. М.: Изд-во МГУ, 1998. 320 с.
- Воробова И. Е., Тимофеева Н. М., Богомазова А. Н., Семенов А. В. Возрастная зависимость частоты стабильных хромосомных aberrаций, определяемых методом FISH, в лимфоцитах здоровых доноров и лиц, подвергшихся неконтролируемому облучению в малых дозах // Успехи геронтол. 1999. Т. 3. С. 88—93.
- Газиев А. И., Малахова Л. В., Фоменко Л. А. Медленная элиминация поврежденных оснований ДНК печени γ-облученных старых мышей // Докл. АН СССР. 1981. Т. 257. С. 725—728.
- Газиев А. И., Подлущий А. Я., Бредберн Р. Увеличение с возрастом частоты спонтанных и индуцированных γ-радиацией hprt-мутаций в лимфоцитах селезенки мышей // Докл. РАН. 1994. Т. 339. С. 276—278.
- Газиев А. И., Ушакова Т. Е., Подлущий А. Я. и др. Диетические антиоксиданты увеличивают продолжительность жизни мышей, снижают частоту мутаций и увеличивают экспрессию защитных генов // Успехи геронтол. 1997. Т. 1. С. 80—84.
- Гусев В. А., Панченко Л. Ф. Современные концепции свободнорадикальной теории старения // Нейрохимия. 1997. Т. 14. С. 14—29.
- Колосова Н. Г., Айдагулова С. В., Непомнящих Г. И. и др. Динамика структурных и функциональных изменений в митохондриях гепатоцитов крыс OXYS с ускоренным старением // Бюлл. exper. биол. мед. 2001. Т. 132. С. 814—819.
- Кольтовер В. К. Свободнорадикальная теория старения: современное состояние и перспективы // Успехи геронтол. 1998. Т. 2. С. 37—42.
- Кудинов Ю. Г. Патологические последствия накопления конечных продуктов ферментативного гликозилирования при старении // Пробл. старения и долголетия. 1994. Т. 4. С. 434—451.
- Лежава Т. А. Функциональные особенности хромосом человека и старение // Успехи геронтол. 2001. Т. 8. С. 34—43.
- Лю Б. Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы: КазНТУ, 2003. 808 с.
- Обухова Л. К., Соловьева А. С., Жижина Г. П., Блюхтерова Н. В. Лонгитудинальное исследование возрастных и сезонных изменений продуктов эндогенного окисления ДНК у мышей // Успехи геронтол. 1997. Т. 1. С. 57—60.
- Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Роль свободнорадикальных реакций окисления в молекулярных механизмах старения живых организмов // Успехи химии. 1983. Т. 52. С. 353—372.

- Плешакова О. В., Рассказова Е. А., Сухарев С. А. и др. Переваривание окислительно модифицированных белков протеолитическими ферментами из нейтрофилов мышей разного возраста // Доклады РАН. 2000. Т. 374. С. 189—191.
- Розенфельд С. В. Спонтанный мутагенез у мышей разных линий // Успехи геронтол. 2001. Т. 8. С. 44—49.
- Розенфельд С. В., Того Е. Ф., Михеев В. М., Попович И. Г., Забежинский М. А., Анисимов В. Н. Возрастная динамика частоты хромосомных повреждений у самцов мышей разных линий // Бюл. exper. биол. мед. 2001. Т. 131, № 5. С. 568—570.
- Скулачев В. П. Старение организма — особая биологическая функция, а не результат поломки сложной живой системы: биохимическое обоснование концепции Вейсмана // Биохимия. 1997. Т. 62. С. 1369—1399.
- Хавинсон В. Х., Баринов В. А., Арумян А. В., Малинин В. В. Свободнорадикальное окисление и старение СПб.: Наука, 2003. 327 с.
- Церетели Г. И., Белопольская Т. В., Анисимов В. Н. Параметры теплового разрушения нативных структур коллагена и их связь с биологическим возрастом // Биофизика. 1996. Т. 41. С. 658—664.
- Шабалин А. В., Никитин Ю. П., Рагино Ю. И. и др. Липиды крови, окислительная резистентность липопротеинов низкой плотности, концентрация жирорастворимых антиоксидантов у людей старческого возраста и долгожителей г. Новосибирска // Успехи геронтол. 2002. Т. 10. С. 64—68.
- Эмануэль Н. М. Некоторые молекулярные механизмы и перспективы профилактики старения // Изв. АН СССР. Сер. Биол. 1975. № 4. С. 785—794.
- Ames B. N. Endogenous DNA damage as related to cancer and aging // *Mutat. Res.* 1989. Vol. 214. P. 41—46.
- Ames B. N., Shigenaga M. K., Hagen T. M. Mitochondrial decay in aging // *Biochim. Biophys. Acta.* 1995. Vol. 1271. P. 165—170.
- Ames B. N., Shigenaga M. K., Hogen T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. Vol. 90. P. 7915—7921.
- Anisimov V. N. *Carcinogenesis and Aging*. Vol. 1 & 2. Boca Raton: CRC Press, 1987. 165 p; 148 p.
- Anisimov V. N. Premature ageing prevention: limitations and perspectives of pharmacological interventions // *Current Drug Res.* 2006. Vol. 7. P. 1485—1504.
- Anisimov V. N., Birnbaum L. S., Butenko G. M. et al. Principles for Evaluating Chemical Effects on the Aged Population. *Environmental Health Criteria* 144. Geneva: WHO, 1993. 159 p.
- Annett K., Duggan O., Freeburn R. et al. An investigation of DNA mismatch repair capacity under normal culture conditions and under conditions of supra-physiological challenge in human CD<sup>4+</sup> T cell clones from donors of different ages // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 976—981.
- Annett K., Hyland P., Duggan O. et al. An investigation of DNA excision repair capacity in human CD<sup>4+</sup> T cell clones as a function of age in vitro // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 491—498.
- Arking R., Force A. G., Dugas S. P. et al. Factors contributing to the plasticity of the extended longevity phenotypes of *Drosophila* // *Exp. Gerontol.* 1996. Vol. 31. P. 623—643.
- Barja G. Free radicals and aging // *Trends in Neurosciences.* 2004. Vol. 27. P. 595—600.
- Barja G. Mitochondrial oxygen consumption and reactive oxygen species production are independently modulated: implications for aging studies // *Rejuvenation Res.* 2007. Vol. 10. P. 215—223.
- Beckman K. B., Ames B. N. The free radical theory of aging matures: a review // *Physiol. Rev.* 1998. Vol. 78. P. 547—581.
- Bernstein C., Bernstein H. *Aging, Sex, and DNA Repair*. San Diego: Acad. Press, Inc., 1991.
- Boffoli D., Scacco S. C., Vergari R. et al. Decline with age of the respiratory chain activity in human skeletal muscle // *Biochim. Biophys. Acta.* 1994. Vol. 1226. P. 73—82.
- Bowling A. C., Mutisya E. M., Walker L. C. et al. Age-dependent impairment of mitochondrial function in primate brain // *J. Neurochem.* 1993. Vol. 60. P. 1964—1967.



- Brierley E. J., Johnson M. A., James O. F. W., Turnbull D. M. Effects of physical activity and age on mitochondrial function // *Q. J. Med.* 1996. Vol. 89. P. 251—258.
- Bruskov V. I., Malakhova L. V., Masalimov Z. K., Chernikov A. V. Heat-induced formation of reactive oxygen species and 8-oxoguanine, a biomarker of damage to DNA // *Nucleic Acids Res.* 2002. Vol. 30. P. 1354—1363.
- Burkle A. In memoriam Bernard Strehler — genomic instability in ageing: a persistent challenge // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 899—906.
- Burkle A. Poly ADP-ribosylation: a posttranslational protein modification linked with genome protection and mammalian longevity: a review // *Biogerontology.* 2000. Vol. 1. P. 41—46.
- Cardno A. G., Rijdsdijk F. V., Sham P. C. et al. A twin study of genetic relationships between psychotic symptoms // *Am. J. Psychiatry.* 2002. Vol. 159. P. 539—545.
- Catania J., Fairweather D. S. DNA methylation, and cellular aging // *Mutat. Res.* 1991. Vol. 256. P. 283—293.
- Chang K. T., Min K.-T. Regulation of lifespan by histone deacetylase // *Ageing Res. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 313—326.
- Cortopassi G. A., Arnheim N. Detection of a specific mitochondrial DNA deletion in tissues of older humans // *Nucleic Acid Res.* 1990. Vol. 18. P. 6927—6933.
- Croteau D. L., Bohr V. A. Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells: a review // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 25409—25412.
- Cutler R. Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991. Vol. 621. P. 1—28.
- De Benedictis G., Carrieri G., Garasto S. et al. Does a retrograde response in human aging and longevity exist? // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 795—801.
- De Benedictis G., Rose G., Carrieri G. et al. Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans // *FASEB J.* 1999. Vol. 13. P. 1532—1536.
- De Magalhaes J. P. Open-minded scepticism: inferring the causal mechanisms of human ageing from genetic perturbations // *Ageing Res. Rev.* 2005. Vol. 5. P. 1—22.
- De Magalhaes J. P., Cabral J. A. S., Magalhaes D. The influence of genes on the aging process of mice: a statistical assessment of the genetic of aging // *Genetics.* 2005. Vol. 265. P. 265—274.
- De Magalhaes J. P., Church G. M. Cells discover fire: employing reactive oxygen species in development and consequences for aging // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 1—10.
- Dilman V. M. *Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention Strategy.* Chur: Harwood Academic Publ., 1994. 387 p.
- Dizdaroglu M. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA: a review // *Free Radic. Biol. Med.* 1991. Vol. 10. P. 225—242.
- Dolle M. E. T., Snyder W. K., Gossen J. A. et al. Distinct spectra of somatic mutations accumulated with age in mouse heart and small intestine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 8403—8408.
- Dollé M. E., Snyder W. K., Dunson D. B., Vijg J. Mutational fingerprints of aging // *Nucleic Acids Res.* 2002. Vol. 30. P. 545—549.
- Ehrenbrink G., Hakenhaar F. S., Salomon T. B. et al. Antioxidant enzymes activities and protein damage in rat brain of both sexes // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 368—371.
- Fraga M. F., Ballestar E., Paz M. F. et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005. Vol. 102. P. 10604—10609.
- Genkinger J. M., Platz E. A., Hoffman S. C. et al. C47T polymorphism in manganese superoxide dismutase (MnSOD), antioxidant intake and survival // *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127. P. 371—377.
- Giese H., Snyder W. K., van Oostrom C. et al. Age-related mutation accumulation at a *lacZ* reporter locus in normal and tumor tissues of *Trp53*-deficient mice // *Mutat. Res.* 2002. Vol. 514. P. 153—163.
- Gorbunova V., Seluyanov A. Making ends meet in old age: DSB repair and aging // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 621—628.
- Grube K., Burkle A. Poly(ADP-ribose)polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. Vol. 89. P. 11759—11763.

- Harman D. Free-radical theory of aging: an update: increasing the functional life span // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006. Vol. 1067. P. 10—21.
- Hayakawa M., Sugiyama S., Hattori K. *et al.* Age-associated damage in mitochondrial DNA in human hearts // *Mol. Cell Biochem.* 1993. Vol. 119. P. 95—103.
- Hipkiss A. Accumulation of altered proteins and ageing: Causes and effects // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 464—473.
- Ho Y. S., Magnenat J. K., Bronson R. T. *et al.* Mice deficient in cellular glutathione peroxidase develop normally and show no increased sensitivity to hyperoxia // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 16644—16651.
- Huang T. T., Carlson E. J., Gillespie A. M., Epstein C. J. Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2000. Vol. 55. P. 85—89.
- Ivanova R., Lepage V., Charron D., Schachter F. Mitochondrial genotype associated with French Caucasian centenarians // *Gerontology.* 1998. Vol. 44. P. 349.
- Jansen-Durr P., Wick G. Molecular and Cellular Gerontology. EMBO workshop, Sepiano/Switzerland, September 18—22, 1999 // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 251—257.
- Kapahi P., Boulton M. E., Kirkwood T. B. L. Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress // *Free Radical Biol. Med.* 1999. Vol. 26. P. 495—500.
- Khrapko K., Kravtsov Y., de Grey A. D. H. J., Vijg J., Schon E. A. Does premature aging of the mtDNA mutator mouse prove that mtDNA mutations are involved in natural aging? // *Aging Cell.* 2006. Vol. 5. P. 279—282.
- Kohn R. R. Effect of antioxidants on life-span of C57BL mice // *J. Gerontol.* 1971. Vol. 26. P. 378—380.
- Kohn R. R., Cerami A., Monnier V. M. Collagen aging in vitro by nonenzymatic glycosylation and browning // *Diabetes.* 1984. Vol. 33. P. 57—59.
- Lambert B., Ringbord U., Skoog L. Age-related decrease of ultraviolet light-induced DNA repair synthesis in human peripheral leukocytes // *Cancer Res.* 1979. Vol. 39. P. 2792—2795.
- Likhachev A. J. Effects of age on DNA repair in relation to carcinogenesis // *Cancer and Aging / A. Macieira-Coelho, B. Nordenskjold, eds. Boca Raton: CRC Press. 1990. P. 97—108.*
- Mao Y., Zhao Y., Zhou L. F. *et al.* A novel gene mutation (1292 deletion) in a Chinese family with cerebral cavernous malformations // *Neurosurgery.* 2005. Vol. 56. P. 1149—1153.
- Martin G. M. Clonal attenuation of somatic cells in aging mammals: a review of supportive evidence and its biomedical significance // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007. Vol. 1119. P. 1—8.
- Matsuo M., Ikeda H., Sugihara T. *et al.* Resistance of cultured human skin fibroblasts from old and young donors to oxidative stress and their glutathione peroxidase activity // *Gerontology.* 2004. Vol. 50. P. 193—199.
- Mays-Hoopers L. L. Development, aging, and DNA methylation // *Int. Rev. Cytol.* 1989. Vol. 114. P. 118—220.
- Medvedev Z. A. Age changes of chromatin // *Mech. Ageing Dev.* 1984. Vol. 28. P. 139—154.
- Medvedev Z. A. Possible role of repeated nucleotide sequences in DNA in the evolution of life spans of different cells // *Nature.* 1972. Vol. 237. P. 453—454.
- Meissner C., Bruse P., Oehmichen M. Tissue-specific deletion patterns of the mitochondrial genome with advancing age // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 518—824.
- Melov S., Revencroft J., Malik S. *et al.* Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics // *Science.* 2000. Vol. 289. P. 1567—1569.
- Melov S., Shoffner J. M., Kaufman A., Wallace D. C. Marked increase in the number and variety of mitochondrial DNA rearrangements in aging human skeletal muscle // *Nucleic Acid Res.* 1995. Vol. 23.
- Meng Q., Wong Y. T., Chen J., Ruan R. Age-related changes in mitochondrial function and antioxidative enzyme activity in fischer 344 rats // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 286—292.
- Meyer R., Muller M., Beneke S., Kupper J. H., Burkle A. Negative regulation of alkylation-induced sister-chromatid exchange by poly (ADP-ribose) polymerase-1 activity // *Int. J. Cancer.* 2000. Vol. 88. P. 351—355.
- Morley A. A. The somatic mutation theory of ageing // *Mutat. Res.* 1995. Vol. 338. P. 19—23.

- Muiras M. L., Muller M., Schachter F., Burkle A. Increased poly (ADP-ribose) polymerase activity in lymphoblastoid cell lines from centenarians // *J. Mol. Med.* 1995. Vol. 76. P. 46—54.
- Niemi A. K., Hervonen A., Hurme M. et al. Mitochondrial DNA polymorphisms associated with longevity in a Finnish population // *Hum. Genet.* 2003. Vol. 112. P. 29—33.
- Ono T., Uehara Y., Saito Y., Ikehata H. Mutation theory of aging, assessed in transgenic mice and knockout mice // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 1543—1552.
- Orr W. C., Sohal R. S. Does overexpression of Cu, Zn-SOD extend life span in *Drosophila melanogaster*? // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 227—230.
- Orr W. C., Sohal R. S. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster* // *Science.* 1994. Vol. 263. P. 1128—1130.
- Ozawa T. Oxidative damage and fragmentation of mitochondrial DNA in cellular apoptosis: a review // *Biosci. Rep.* 1997. Vol. 17. P. 237—250.
- Parkes T. L., Elia A. J., Dickinson D. et al. Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons // *Nature Genetics.* 1998. Vol. 19. P. 171—174.
- Perez-Campo R., Lopez-Torres M., Cadenas S. et al. The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach // *J. Comp. Physiol. B.* 1998. Vol. 168. P. 149—158.
- Pleshakova O. V., Kutsyi M. P., Sukharev S. A. et al. Study of protein carbonyls in subcellular fractions isolated from liver and spleen of old and gamma-irradiated rats // *Mech. Ageing Dev.* 1998. Vol. 103. P. 45—55.
- Ploskonosova I. I., Baranov V. I., Gaziev A. I. PCR assay of DNA damage and repair at the gene level in brain and spleen of gamma-irradiated young and old rats // *Mutat. Res.* 1999. Vol. 434. P. 109—117.
- Reiter R. J. The pineal gland and melatonin in relation to aging: A summary of the theories and of the data // *Exp. Gerontol.* 1995. Vol. 30. P. 199—212.
- Rose G., Passarino G., Carrieri G. et al. Paradoxes in longevity: sequence analysis of mtDNA haplogroup J in centenarians // *Eur. J. Hum. Genet.* 2001. Vol. 9. P. 701—707.
- Ross O.A., McCormack R., Curran M.D. et al. Mitochondrial DNA polymorphism: its role in longevity of the Irish population // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 1161—1178.
- Roy A. K., Oh T., Rivera O. et al. Impact of transcriptional regulation on aging and senescence // *Ageing Res. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 367—380.
- Salganik R. I., Solovyova N. A., Dikalov S. I. et al. Inherited enhancement of hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in the S strain rats results in DNA rearrangements, degenerative diseases, and premature aging // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. Vol. 199. P. 726—733.
- Scheubel R. J., Kahrstedt S., Weber H. et al. Depression of progenitor cell function by advanced glycation endproducts (AGEs): Potential relevance for impaired angiogenesis in advanced age and diabetes // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 540—548.
- Sedelnikova O. A., Hirokawa I., Zimonjic D. B. et al. Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unrepairable double-strand breaks // *Nature Cell Biol.* 2004. Vol. 6. P. 168—170.
- Sell D. R., Lane M. A., Jonhson W. A. et al. Longevity and the genetic determination of collagen glycosidation kinetics in mammalian senescence // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 485—490.
- Shigenaga M. K., Hogen T. M., Ames B. N. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994. Vol. 91. P. 10771—10778.
- Skulachev V.P. Mitochondria, reactive oxygen species and longevity: some lessons from the Barja group // *Aging Cell.* 2004. Vol. 2004. P. 17—19.
- Solmi R., Pallotti F., Rugolo M. et al. Lack of major mitochondrial bioenergetic changes in cultured skin fibroblasts from aged individuals // *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1994. Vol. 33. P. 477—484.
- Suji G., Sivakami S. Glucose, glycation and aging // *Biogerontology.* 2004. Vol. 5. P. 365—373.
- Szczesny B., Bhakat K.K., Mitra S., Boldogh I. Age-dependent modulation of DNA repair enzymes by covalent modification and subcellular distribution // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125. P. 755—765.

- Takabayashi F., Tahara S., Kaneko T. et al.* Accumulation of 8-oxo-2'-deoxyguanosine (as a biomarker of oxidative DNA damage) in the tissues of aged hamsters and change in antioxidant enzyme activities after single administration of N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine // *Gerontology*. 2004. Vol. 50. P. 57—63.
- Tanaka M., Gong J. S., Zhang J. et al.* Mitochondrial genotype associated with longevity // *Lancet*. 1998. Vol. 351. P. 185—186.
- Troen B. R.* The biology of aging // *Mt. Sinai J. Med.* 2003. Vol. 70. P. 3—22.
- Trounce I., Byrne E., Marzuki S.* Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing // *Lancet*. 1989. Vol. 1. P. 637—639.
- Turker M. S., Lasarev M., Connolly L. et al.* Age-related accumulation of autosomal mutations in solid tissues of the mouse is gender and cell type specific // *Aging Cell*. 2007. Vol. 6. P. 73—86.
- Ulrich P., Cerami A.* Protein glycation, diabetes, and aging // *Recent Progr. Horm. Res.* 2001. Vol. 56. P. 1—21.
- Vanyushin B. F., Nemirovsky L. E., Klimenko V. V. et al.* The 5-methylcytosine in DNA of rats // *Gerontologia*. 1973. Vol. 19. P. 38—152.
- Vermulst M., Bielas J. H., Kujoth G. C. et al.* Mitochondrial point mutations do not limit the natural lifespan of mice // *Nat. Genet.* 2007. Vol. 39. P. 540—543.
- Vijg J.* Impact of genome instability on transcription regulation of aging and senescence // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125. P. 747—753.
- Vijg J.* Somatic mutations and aging: a re-evaluation // *Mutat. Res.* 2000. Vol. 447. P. 117—135.
- Vijg J., Dolle M. E. T.* Large genome rearrangements as a primary cause of aging // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 907—915.
- Vlassara H., Bucala R., Striker L.* Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging // *Lab. Invest.* 1994. Vol. 70. P. 138—151.
- Weksberg R., Shuman C., Caluseriu O. et al.* Discordant KCNQ1OT1 imprinting in sets of monozygotic twins discordant for Beckwith-Wiedemann syndrome // *Hum. Mol. Genet.* 2002. Vol. 11. P. 1317—1325.
- Wilson M., Jones P. A.* DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells // *Science*. 1983. Vol. 220. P. 1055—1057.
- Yao Y. G., Kong Q. P., Bandelt H. J. et al.* Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. Vol. 70. P. 635—651.
- Yelinova V., Glazachev Y., Khrantsov V. et al.* Studies of human and rat blood under oxidative stress: changes in plasma thiol level, antioxidant enzyme activity, protein carbonyl content, and fluidity of erythrocyte membrane // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. Vol. 221. P. 300—303.
- Yin D., Chen K.* The essential mechanisms of aging: irreparable damage accumulation of biochemical side-reactions // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 455—465.
- Yuasa Y.* DNA methylation in cancer and aging // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 1649—1654.
- Zhang J., Asin-Cayuela J., Fish J. et al.* Strikingly higher frequency in centenarians and twins of mtDNA mutation causing remodeling of replication origin in leukocytes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. Vol. 100. P. 1116—1121.

## Глава 5

### ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ

Отчего всемогущий творец наших тел  
Даровать нам бессмертия не захотел?  
Если мы совершенны, зачем умираем?  
Если несовершенны, то кто бракодел?

Омар Хайям

#### 5.1. МИТОТИЧЕСКИЙ ЦИКЛ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Успехи в технике культивирования клеток *in vitro* позволили изучить поведение клеток, не измененное влияниями внутренней среды организма. Однако следует заметить, что условия *in vitro* не соответствуют физиологическим, и свойства культивируемых клеток могут отличаться от свойств клеток и их популяций *in situ*. Одним из подходов к изучению роли организма в механизмах старения клеток может быть трансплантация клеток и тканей от доноров одного возраста реципиентам другого возраста. Такой подход дает определенные преимущества по сравнению с исследованиями *in vitro*. Однако первостепенное значение имеют результаты изучения старения клеток непосредственно *in vivo* и *in situ*.

Возрастная динамика пролиферативной активности тканей определяется параметрами, характеризующими кинетику клеточного цикла, полученными при гистоавторадиографических (с меченым по тритию тимидином) или иммуногистохимических исследованиях (например, по включению 5-бромодезоксиуридина) и при биохимической оценке величины включения меченых предшественников в ДНК и РНК.

Необходимо напомнить, что реальные клеточные системы — органы и ткани — формируются из клеток с различными пролиферативными характеристиками. По своей пролиферативной активности все ткани организма могут быть разделены на три большие группы (Leblond, 1964):

1. Непролиферирующие популяции, характеризующиеся отсутствием синтеза ДНК и делением клеток (постмитотические клетки). Эти клетки являются высокоспециализированными и выполняют строго определенные функции. К таким клеткам относятся нейроны, мышечные волокна и эритроциты.

2. Растущие популяции с очень низкой пролиферативной активностью, без значительной убыли клеток. Такие клеточные популяции называют обратимо постмитотическими. Они также весьма специализированы, но, несмотря на то что полностью дифференцированы, сохраняют способность к митозу. Такие клеточные популяции пролиферируют очень медленно и большую часть клеточного цикла находятся в состоянии покоя. Примерами таких тканей могут быть паренхима печени и почек. В период эмбриогенеза

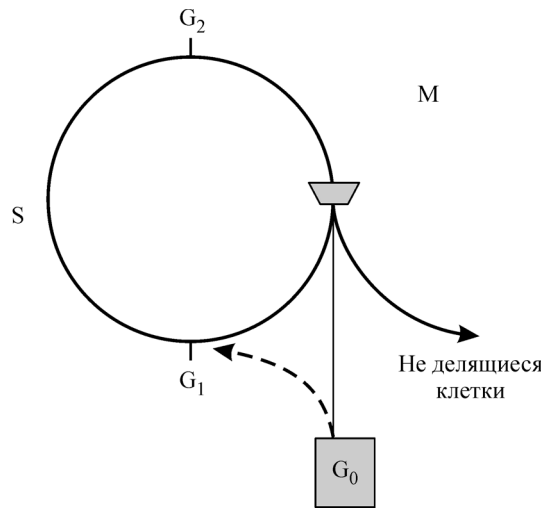


Рис. 5.1. Схема митотического цикла клетки млекопитающих.

популяции гепатоцитов пролиферируют с высокой скоростью, однако уже в начале постнатального периода количество активно пролиферирующих клеток в печени уменьшается, а время клеточного цикла существенно увеличивается. Во взрослом организме количество активно пролиферирующих гепатоцитов весьма невелико (Fabrikant, 1969). Тем не менее пролиферация печеночной паренхимы может быть индуцирована, например, частичной гепатэктомией (Bucher, 1963).

3. Обновляющиеся клеточные популяции, в которых клеточная пролиферация компенсирует их убыль. Такие ткани характеризуются постоянной клеточной пролиферацией, но большинство вновь образующихся клеток теряют способность к дальнейшей пролиферации, специализируясь для выполнения определенных функций, а затем погибают. Небольшая фракция клеток в таких популяциях сохраняет практически неограниченную способность к пролиферации. Такие клетки называются стволовыми клетками, и именно они обеспечивают сохранение структуры и функции всей клеточной популяции. Во время митоза стволовые клетки воспроизводят сами себя, обеспечивая тем самым поддержание линии стволовых клеток, и, кроме того, дают начало субпопуляции быстро делящихся и дифференцирующихся клеток. Примерами таких тканей могут быть эпидермис, кишечный эпителий и кроветворные клетки.

Подходы к изучению старения в различных тканях в значительной мере определяются типом исследуемой ткани. Важным параметром является длительность клеточного цикла. Обычно в клеточном цикле выделяют 4 фазы: 1) митоз (M); 2) пресинтетическую фазу (G<sub>1</sub>); 3) фазу синтеза, во время которой синтезируется новая ДНК (S); 4) постмитотическую фазу (G<sub>2</sub>), предшествующую митозу (рис. 5.1).

Очевидно, что, кроме пролиферирующих клеток, ткани также содержат клетки, которые могут вступать в митоз при некоторых условиях. Такие клетки, называемые покоящимися клетками, формируют резервный компартмент пролиферирующей системы. Согласно современным представлениям состав этого компартмента гетерогенен и включает по крайней мере две группы клеток —  $G_0$  клетки и  $G_2$  клетки (резервную популяцию), соответствующие в клеточном цикле периодам покоя  $R_1$  и  $R_2$  (Baserga, 1977; Епифанова и др., 1983; Фаллер, Шилдс, 2006). Постмитотические  $R_1$  клетки вступают в митотический цикл спустя некоторое время после воздействия стимула (пререпликативный период).  $R_2$  клетки выбывают из клеточного цикла после завершения синтеза ДНК, но они могут быстро вступить в митоз и начать делиться. Как полагает S. Gelfant (1981), клетки из резервной ( $G_2$ ) популяции ( $R_2$  клетки) генетически отличаются от клеток популяции  $G_0$  ( $R_2$ ).

Во время митотического цикла клетки подвергаются глубоким функциональным и биохимическим перестройкам, обеспечивающим последовательный переход клетки из одной фазы клеточного цикла в другую. Эти процессы контролируются генами клеточного цикла. Согласно гипотезе осцилляторной репрессии (Mitchison, 1971) регуляция клеточного цикла обеспечивается механизмом отрицательной обратной связи и реализуется периодическим синтезом генетически контролируемых ферментов, которые играют ключевую роль в митотическом цикле и поддерживают временные рамки этого синтеза. Поскольку подавление синтеза ферментов в клетке имеет такую же периодичность, как митотический цикл, предполагается, что регуляция клеточной кинетики в цикле обеспечивается длительностью периодов осцилляции в синтезе ферментов, что приводит к соответствующим вариациям в скорости прохождения клетки через митотический цикл и его длительности (Gelfant, 1981).

Под воздействием факторов роста клетки выходят из фазы  $G_0$  и начинают последовательно синтезировать циклинзависимые киназы Cdk2-циклин D, Cdk4-циклин D и Cdk5-циклин D. Cdk2-циклин E появляется в фазе  $G_1$  и достигает максимальной концентрации на границе фаз  $G_1$  и S, после чего его концентрация в клетке существенно снижается. Cdk2-циклин A начинает синтезироваться в промежутке между фазами  $G_1$  и S и присутствует на протяжении всей фазы репликации ДНК (фазы S). В конце фазы  $G_2$  начинается образование комплекса Cdk2-циклина B, уровень которого достигает максимума на границе фаз  $G_2$  и M, а затем резко снижается, подвергаясь деградации (Фаллер, Шилдс, 2006). Такое разнообразие киназ обеспечивает правильную экспрессию генов, отвечающих за репликацию клетки. Среди генов, регулируемых Cdk-циклинами, различают гены быстрого ответа, кодирующие факторы транскрипции и участвующие в регуляции других генов, и гены замедленного ответа, продукты которых участвуют в метаболических процессах, включая экспрессию субъединиц циклина.

В клеточном цикле существуют четыре точки, называемые регуляторными, или контрольными (check-points), в которых точность репликации,

правильность последовательности и равное разделение ДНК контролируется специальными клеточными механизмами.

В случае обнаружения в фазе  $G_1$  повреждения ДНК белок p53 выступает в роли фактора транскрипции и вызывает задержку клеток в этой фазе (регуляторная точка фазы  $G_1$ ). Быстро катаболизирующийся в норме, белок p53 стабилизируется при появлении в клетке аномальной ДНК и присоединяется к ней, в результате чего этот белок накапливается в ядре клетки и стимулирует экспрессию белка, ингибирующего циклин-зависимую киназу Cdk2. При этом клетка задерживается в фазе  $G_1$  на время восстановления поврежденных нуклеотидов ферментами репарации ДНК. Этот механизм предотвращает копирование поврежденных оснований ДНК и мутагенез. При отщеплении белка p53 от ДНК его концентрация в клетке снижается, происходит отделение ингибитора Cdk и начинается экспрессия этой киназы. Таким образом, осуществляется супрессорная роль антионкогена p53. При мутациях p53, когда один или оба аллеля p53 неактивны, поврежденная ДНК может реплицироваться, что приводит к трансформации клетки.

Если произошли ошибки в репликации и они не были устранены ферментами репарации ДНК, клетка не может выйти из фазы S. Проверка точности репликации ДНК — вторая важнейшая контрольная точка клеточного цикла. Следующая регуляторная точка имеет место в фазу  $G_2$  клеточного цикла. При этом нереплицированная ДНК блокирует переход клетки из  $G_2$  в фазу M, т. е. в митоз. В случае, если клетка проходит через фазу цикла, не завершив все молекулярные процессы, необходимые для подготовки к делению, может развиваться катастрофическое повреждение, например конденсация неполностью реплицированных хромосом и их последующая фрагментация. Существуют регуляторные белки, контролирующие активность киназной, либо циклиновой субъединицы фактора, стимулирующего митоз (mitosis-promoting factor, MPF), которые предотвращают действие MPF до полного завершения репликации ДНК. Если разрушение MPF происходит преждевременно, нарушается движение хромосом из метафазной пластинки, приводящее к их нерасхождению. Некоторые генетические ошибки не распознаются клеточной системой контроля, однако существуют разнообразные механизмы, обеспечивающие точность синтеза и репликации ДНК (см. главу 4).

Активность комплексов циклин-зависимых киназ угнетается белками, относящимися к семействам p21 и p16. Белки семейства p21 (p21, p27 и p57) содержат гомологичные N-концевые участки, взаимодействующие с комплексами Cdk-циклин. Белок p21 является продуктом гена, индуцируемого супрессорным белком p53, и также Cdk-связывающим белком, активирующимся в стареющих клетках (см. ниже). Белок p27 опосредует контактное торможение клеточного роста, обеспечивающее выход клетки из цикла. Когда в условиях клеточной культуры достигается критическая плотность клеточной популяции, происходит контактное торможение роста. Межклеточные контакты стимулируют экспрессию p27. Белки семейства p16 (p15 и p16) взаимодействуют исключительно с Cdk4 и Cdk6. Они служат медиато-



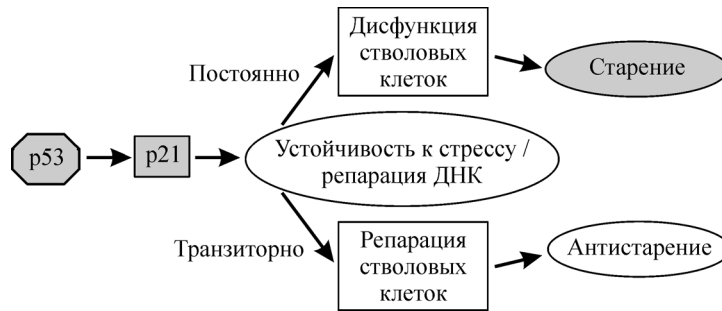


Рис. 5.2. Участие белка p21 в индуцируемой p53 остановке клеточного цикла, способствуя устойчивости к стрессу или репарации ДНК, может приводить к старению или антистарению.

рами задержки пролиферации, вызванной такими угнетающими рост факторами, как трансформирующий фактор роста (TGF- $\beta$ ).

Ключевую роль в регуляции пролиферации играют белки p53 и Rb (белок ретинобластомы). Эта роль заключается в блокировании белков, запускающих клеточный цикл. Белок p53 присоединяется к p53-связывающим доменам промоторных (регуляторных) зон генов, участвующих в регуляции клеточного цикла (рис. 5.2). Функция белка Rb заключается в подавлении активности факторов транскрипции, относящихся к семейству E<sub>2</sub>F, которые есть во многих белках, участвующих в инициации синтеза ДНК. При переходе из фазы G<sub>1</sub> в S-фазу Rb гиперфосфорилируется с помощью циклинзависимых киназ, что приводит к его инактивации и позволяет клетке вступить в митоз. Белок p21, являясь сильным ингибитором комплексов Cdk-циклин, предотвращает фосфорилирование Rb, тем самым позволяя ему выключать факторы транскрипции (E<sub>2</sub>F) (Фаллер, Шилдс, 2006).

Клеткам низших организмов для вступления в S-фазу клеточного цикла необходимо наличие питательных веществ в питательной среде, тогда как у высших организмов их наличие обычно не является лимитирующим фактором. Однако сигналы, инициирующие деление клетки, чаще бывают внешними, чем внутренними. Такими сигналами являются факторы роста: тромбоцитарный фактор роста (PDGF); эпидермальный фактор роста (EGF); факторы роста фибробластов (FGF); фактор роста нервов (NGF), действующий только на клетки нервной системы; эритропоэтин (EPO), стимулирующий образование эритроцитов в костном мозге; интерлейкин-2 и интерлейкин-3. Указанные ростовые факторы действуют в основном на специфические клетки-мишени, являясь лигандами, которые связываются со специфическими поверхностными рецепторами клетки и инициируют процесс передачи сигнала (Пальцев, Кветной, 2006; Фаллер, Шилдс, 2006).

Молекулярные механизмы передачи митогенного сигнала, т. е. побуждающего клетку к делению, в настоящее время хорошо изучены и включают несколько этапов:

- активацию факторами роста связанных с мембраной клетки Ras-белков;

- включение под влиянием Ras киназного митоген-активирующего механизма (mitogen-activated protein (MAP) kinase pathway);
- активацию белков семейства Src.

В нормальной клетке содержится гомолог *Src* гена, называемый *c-Src*, кодирующий синтез тирозинкиназы (Src-тирозинкиназы). Мутация в этом гене приводит к трансформации нормальной клетки в опухолевую, поэтому он является протоонкогеном. Семейство Src-тирозинкиназ состоит из 9 тирозинкиназ, часть из которых присутствуют только в клетках системы кроветворения.

Белки этого семейства активируются с помощью сигнальных механизмов, запускаемых факторами роста, и участвуют в нескольких сигнальных механизмах, регулирующих деление клеток, перестройку цитоскелета клетки, в восстановлении клеток при различных стрессах, реакции на действие раздражителей (Фаллер, Шилдс, 2006). Полагают, что эти внутриклеточные киназы являются основными регуляторами функции клетки. Нарушение регуляции Src-тирозинкиназ приводит к неконтрольной клеточной пролиферации и развитию злокачественных новообразований (Egrel, Courtneidge, 1995).

Упрощенная схема сигнального механизма клеточного деления представлена на рис. 5.3.

Большинство клеток млекопитающих находится в так называемой фазе покоя ( $G_0$ ), или компартменте клеточной дифференцировки. В течение этой фазы гены, кодирующие белки, которые запускают пролиферацию клеток, находятся в неактивном («выключенном») состоянии. В этом состоянии в клетке осуществляется синтез специализированных белков, необходимых для осуществления дифференцировки. В большинстве типов клеток гены клеточной пролиферации могут быть включены снова. Но в клетках сердечной мышцы или нейронах гены пролиферации никогда не запускаются снова после выключения. После завершения пролиферации в таких клетках Cdk и циклины выключаются и в норме больше никогда не активируются.

Один из основных типов сигналов, активирующих циклинзависимые киназы и циклины, генерируется факторами роста. Получив такой сигнал, организм должен регулировать ответ таким образом, чтобы поддерживать количество клеток, формирующих ткани и их пространственную организацию.

Объединение клеток в высокоупорядоченные структуры (ткани) происходит неслучайным образом. Каждая ткань формируется в результате специфической адгезии клеточных ансамблей, их связи с внутренним цитоскелетом и взаимодействия с клеточным матриксом. Контакты, с помощью которых клетки соединяются друг с другом и внеклеточным матриксом, включают плотные, прикрепительные и коммуникационные контакты. Функции этих контактов обеспечиваются трансмембранными связывающими белками (кадгеринами и интегринами), внутриклеточными соединительными белками (катенинами, винкулином,  $\alpha$ -актенином и др.) и коннексинами (Фаллер, Шилдс, 2006).

В клеточных культурах фибробластов наблюдали прогрессивное уменьшение экспрессии коннексина-43 (cx-43) по мере увеличения числа пасса-

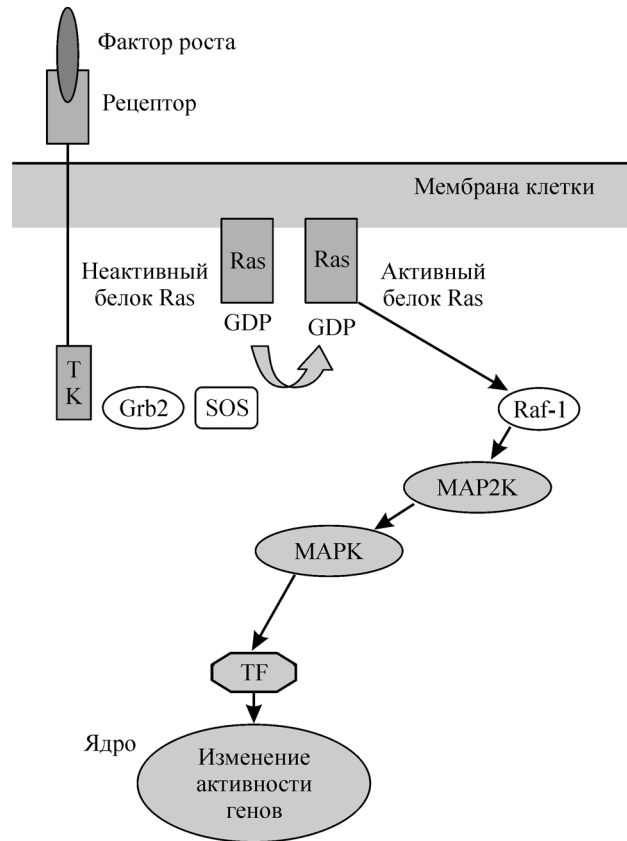


Рис. 5.3. Схема передачи сигнала фактора роста, запускающая регулирующую клеточное деление киназный каскад (Фаллерс, Шилдс, 2006, с изменениями).

жей (Xie, Hu, 1994; Statuto et al., 2002). Уменьшение этих взаимодействий также наблюдается в старых эндотелиальных клетках человека (Xie, Hu, 1994). Уровень мРНК коннексина 43 и соответствующего белка также снижается в этих клетках при старении *in vitro*. Неспособность старых клеток угнетать щелевые контакты в ответ на добавление эпидермального фактора роста свидетельствует о дефекте в механизме, регулирующем активность щелевых контактов в старых клетках (Xie, Hu, 1994).

В опытах *in vivo* наблюдали существенное снижение экспрессии белков межклеточной адгезии N-кадгерина и  $\alpha$ -катенина в почках, что сопровождалось нарушениями в полярности выстилающих проксимальные каналцы клеток (Jung et al., 2004). Однако уровень некоторых других белков семейства кадгеринов (E и Ksp), а также катенинов (p120-,  $\beta$ - и  $\gamma$ -катенинов) не изменялась с возрастом. Имеются сообщения об увеличении с возрастом уровня фактора адгезии клеток сосудистой стенки-1 (VCAM-1) в аорте (Merat et al., 2000) и фактора адгезии нейронов (NCAM) в мышцах у мышей

**Таблица 5.1**  
**Возрастные изменения в регуляции межклеточных взаимодействий**  
**у животных и человека**

Белок, лиганд	Вид	Орган, ткань	Изменение с возрастом
<i>In vivo</i>			
Е-кадгерин	Крыса	Простата	↓
»	»	Почка, проксимальные каналцы	↓
»	»	Эпидидимис	↓
М-кадгерин	Человек	Мышцы	↓
Н-кадгерин	Крыса	Головной мозг	↓
»	Мышь	Гиппокамп	↓
»	Крыса	Почка, проксимальные каналцы	↓
Кадгерин-11	Кролик	Костный мозг	↓
VCAM-1	Человек	Сосуды кожи	↓
»	Мышь	Аорта	↑
NCAM	Крыса	Мышца	↑
α-катенин	»	Почка, проксимальные каналцы	↓
β-катенин	»	Головной мозг	↓
SCN5A натриевый канал	»	Сердце	↓
Коннексин-30	Мышь	Астроциты, головной мозг	=
Коннексин-32	Крыса	Простата	↓
Коннексин-40	»	Аорта	=
Коннексин-43	Морская свинка	Сердце	↓
»	Крыса	Аорта	↓
»	Мышь	Астроциты, головной мозг	=
<i>In vitro</i>			
Коннексин-43	Человек	Эндотелий сосудов	↓
»	»	Фибробласты	↓
»	»	Фибробласты	↓

Примечание. ↓ — снижение с возрастом; ↑ — увеличение с возрастом; = — отсутствие возрастных изменений.

(Andersson et al., 1993). Однако в сосудах кожи человека наблюдали снижение экспрессии белка VCAM-1 (Ashcroft al., 1998). Уровень N-кадгерина в крысином гиппокампе оставался стабильным до возраста 720 дней, хотя и был снижен по сравнению с таковым у мышей в возрасте 1 или 21 дня (Wagner et al., 1992). Существенное снижение экспрессии кадгерина-11 наблюдали в клетках костного мозга старых кроликов (Goomer et al., 1998).

Экспрессия Е-кадгерина снижалась в эпителии предстательной железы старых крыс, тогда как уровень коннексина-43, играющего важную роль в клеточной дифференцировке и контроле роста, повышался (Habermann et al., 2001). Экспрессия коннексинов 40 и 43 в сердце старых мышей была весьма гетерогенной, тогда как экспрессия белка натриевого канала SCN5A

снижалась на 50 % (van Veen et al., 2005). Уровень коннексина-43 был увеличен, а коннексинов-40 и -45 был не изменен у старых морских свинок по сравнению с таковым у молодых (Jones et al., 2004). Экспрессия коннексина-43 в астроцитах головного мозга была максимальной у мышей в возрасте 7 мес., однако число и размеры щелевых контактов Сх-30 и Сх-43 снижались к 21-му месяцу их жизни. В эндотелии аорты старых крыс экспрессия коннексина-43 снижалась, тогда как Сх-40 оставалась на высоком уровне (Yeh et al., 2000). Имеются данные о снижении с возрастом в сердечной мышце и некоторых других тканях мРНК коннексина-43 как у мыши и кролика, так и у человека (Boengler et al., 2006).

Таким образом, имеющиеся данные, несмотря на их неполноту и некоторую гетерогенность, свидетельствуют о существенных изменениях систем, регулирующих межклеточные взаимодействия (табл. 5.1).

## 5.2. СТАРЕНИЕ ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫХ *IN VIVO* КЛЕТОК

Оригинальным подходом к изучению возрастной динамики пролиферативной активности клеток и тканей явилась трансплантация тканей от молодых и старых доноров реципиентам разного возраста. В опытах P. L. Krohn (1962) эксплантаты, взятые из различных участков кожи инбредных мышей (туловища, уха, хвоста), пересаживали молодым сингенным гибридным мышам F1. Поскольку в качестве доноров и реципиентов были выбраны линии мышей с различным цветом волос, было легко идентифицировать и выделять трансплантаты. Когда реципиенты достигали старческого возраста, трансплантаты удаляли и пересаживали мышам второго поколения (F2). Опыты показали, что таким образом пассируемые *in vivo* кожные трансплантаты могут сохранять свой пролиферативный потенциал в течение 7—8 лет, что значительно превышает продолжительность жизни мышей. Однако было отмечено, что после 5—6 пассажей трансплантируемые участки кожи уменьшались в размерах, что сопровождалось снижением пролиферативной активности клеток. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что клетки сохраняют свою жизнеспособность долгое время после завершения жизненного цикла донора, хотя имеют место ограничения их пролиферативной активности, зависящие от изменений экстрацеллюлярных факторов.

Остается, однако, неясным, определяется ли конечная деструкция трансплантированных образцов кожи истощением их пролиферативного потенциала. Постепенное увеличение рубцовой ткани и травматизация при повторных пересадках могут играть определенную роль в этом процессе. При интерпретации результатов этих экспериментов необходимо также помнить, что сосуды и нервы реципиента могут врастать в трансплантат. В рассматриваемой работе не было предпринято попытки даже примерно оценить число делений, которым подверглись клетки базального слоя кожи за время их серийной трансплантации. Полагают, что даже при осторожных оценках их число в опытах Крона может достигать пятисот, если не нес-

колько тысяч, делений, что значительно превышает лимит Хейфлика для фибробластов в культуре.

В серии опытов было изучено поведение гетерохронных трансплантатов кожи, пересаженных от старых доноров молодым реципиентам (Krohn, 1962). Эксплантаты кожи от мышей линии А в возрасте 680 и 74 дней и мышей СВА в возрасте 765 и 71 суток были одновременно трансплантированы молодым мышам линий А, СВА и их гибридам (СВА×А) $F_1$ . Кожные трансплантаты от старых мышей линии А атрофировались у всех реципиентов через 100—227 дней после пересадки, в то время как трансплантаты от молодых мышей этой линии сохраняли жизнеспособность по крайней мере в течение 300 дней. Однако в опытах с мышами линии СВА старые трансплантаты выживали столько же, сколько и трансплантаты, полученные от молодых доноров. Причина линейных различий в поведении трансплантатов кожи неизвестна.

D. L. Horton (1967) пересаживал кожу от старых (30—32 мес.) мышей молодым (3—4 мес.) реципиентам. Продолжительность жизни трансплантатов достигала двух лет, а максимальный возраст трансплантированной ткани достигал 4 лет и 8 месяцев, что существенно превышало среднюю продолжительность жизни мышей. Частота клеточных делений в трансплантированной коже была сниженной, что может быть одним из факторов увеличения продолжительности ее жизни. Выщипывание волос из трансплантированной кожи старых мышей показало, что цикл роста волос был на 4 недели более медленным, чем в коже молодых мышей. Однако растущие волосы на трансплантате были синхронизированы по фазе с ростом волос на коже реципиента. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что системные регуляторные факторы ответственны за замедление роста волос на старой коже.

При пересадке стволовых и транзиторных эпидермальных клеток кожи от молодых и старых мышей в 3.5-дневные бластоцисты только стволовые клетки давали клональный рост (Liang et al., 2004). При этом профили экспрессии генов и белков клеток молодых и старых доноров были одинаковы и отличались от таковых в транзиторных клетках. Авторы полагают, что полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния возраста на поведение стволовых клеток эпидермиса кожи.

В опытах D. W. Barnes и соавт. (1962) гематопозитические клетки от старых мышей пересаживали молодым реципиентам, подвергшимся интенсивному общему облучению в дозе от 800 до 1000 рад, что приводило к полной деструкции их кроветворной системы. Было установлено, что степень защиты реципиентов от повреждающего действия радиации, достигаемая пересадкой им кроветворных клеток, уменьшается при каждой последующей трансплантации, что свидетельствует об ограниченном пролиферативном потенциале стволовых клеток.

В серии экспериментов облученным мышам внутривенно вводили живые гематопозитические клетки (Lajtha, Schofield, 1971). Спустя 9—14 дней инъецированные стволовые клетки формировали колонии в селезенке реципиента. Затем клетки из этих колоний были серийно трансплантированы

14-дневным облученным реципиентам. Результаты были выражены в числе колониеобразующих единиц (КОЕ), причем число КОЕ показывало число стволовых клеток. Было установлено, что число КОЕ, образующихся в селезенке реципиентов, уменьшалось с каждым пассажем.

D. J. Rossi и соавт. (2005) трансплантировали высокоочищенные стволовые клетки костного мозга от молодых (2—3-месячных) и старых (22—24-месячных) мышей C57BL/6 молодым сингенным реципиентам и исследовали у них характеристики клеток крови спустя 4 мес. после трансплантации. Оказалось, что приживаемость миелоидных предшественников не зависела от возраста донора, тогда как лимфоидные клетки от старых доноров приживались хуже. Анализ экспрессии транскриптома с помощью микрочипов Аффиметрикс (около 30 000 генов) выявил существенные различия между его профилями в стволовых клетках старых и молодых доноров. При этом наибольшие различия были выявлены в экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл, передачу сигналов и специализацию субтипов лимфоидного ряда. Важной находкой было обнаружение усиления экспрессии генов лейкемогенеза в клетках старых мышей. Эти данные полностью согласуются с наблюдениями о значительной частоте развития лейкозов у мышей, которым в молодом возрасте трансплантировали клетки тимуса, костного мозга и селезенки от старых сингенных мышей, тогда как трансплантация таких клеток от молодых доноров к таким последствиям не приводила (Ebbesen, 1971).

При трансплантации клеток крови от здоровых мышей линии C57BL/6j мышам с генетически обусловленной анемией наблюдалось излечение анемии и интенсивная пролиферация пересаженных клеток у мутантных мышей в течение 36 мес., за которые они прошли 4 последовательных пассажа (Harrison, 1978). В одном случае клеточная линия продуцировала эритроциты в течение 73 мес. В этих опытах наблюдалось постепенное уменьшение колониеобразующей способности стволовых клеток, особенно полученных от старых доноров. Эти наблюдения позволяют предполагать, что кроветворные клетки имеют ограниченный потенциал делений, хотя они и могут делиться в течение периода, значительно большего, чем продолжительность жизни мыши.

В серии элегантных экспериментов была изучена пролиферативная активность эпителия молочных желез (Daniel, 1977). Кусочки ткани молочной железы диаметром 0.5 мм трансплантировали от доноров реципиентам, у которых предварительно хирургически удаляли собственную ткань молочной железы. Когда реципиенты достигали старческого возраста, трансплантаты пересаживали молодым мышам. Было обнаружено, что после 6 или 7 успешных трансплантаций с интервалом от 2 до 3 месяцев пролиферативная активность эпителия молочной железы уменьшалась и трансплантаты погибали. Если же интервалы между двумя последовательными пассажами увеличивали до 1 года, трансплантаты, хотя и уменьшались в размерах, но сохраняли жизнеспособность в течение 6 лет.

В другом опыте исследовалось влияние возраста донора на рост и пролиферацию эпителия молочных желез у мышей. Кусочки ткани от 3- и

26-месячных доноров одновременно пересаживали контралатерально 3-месячным реципиентам. Трансплантированные ткани выживали в течение 5 последовательных пассажей на молодых мышцах и затем деградировали и погибали. В том случае, когда ткань молочной железы от 26- и 3-месячных мышцей трансплантировали 26-месячным реципиентам, ни молодые, ни старые трансплантаты не проявили интенсивного роста.

Таким образом, имеющиеся данные по серийной трансплантации ткани кожи, молочной железы и кровяных клеток не дают однозначно доказательств существенного снижения жизнеспособности клеток, полученных от старых (но не очень старых) животных при сравнении с клетками молодых животных. Старение тканей может быть замедлено, и можно поддерживать их жизнеспособность на время, превышающее максимальную продолжительность жизни животных-доноров, пересаживая эти ткани молодым животным (Anisimov, 1987).

Важным аспектом проблемы старения тканей является выяснение роли микроокружения в пролиферации трансплантированных клеток. В опытах D. Pasciu и соавт. (2006)  $2 \times 10^6$  гепатоцитов, полученных от молодых 2-месячных сингенных крыс, вводили через портальную вену в печень 4-, 12-, 18- и 24-месячных крыс линии F344. Животных убивали группами через 2 или 6 мес. после введения клеток. В то время как введенные молодым (4-месячным) крысам трансплантированные клетки печени не выявлялись через 3 или 6 мес. после трансплантации, у 18-месячных реципиентов наблюдалась отчетливая экспансия донорских гепатоцитов, особенно выраженная через 6 мес. после пересадки клеток печени. Интересно, что при прививке клеток гепатомы в портальную вену молодых крыс число развившихся узлов и их размеры были меньше, чем при прививке такого же числа клеток гепатомы в портальную вену старых животных (McCullough et al., 1994). Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, что в старом организме микроокружение печеночных клеток поддерживает клоногенное развитие трансплантированных как нормальных, так и малигнизированных гепатоцитов.

### 5.3. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТКАНЕЙ *IN SITU*

Смотреть в былое, видеть все следы.

Валерий Брюсов

При анализе проблемы возрастных изменений тканей *in situ* следует иметь в виду, что в различных тканях — необновляющихся, обратимо постмитотических (растущих) и быстро обновляющихся — старение может про-



являться различным образом. В необновляющихся популяциях оно может сопровождаться возрастными изменениями в числе и функциональной активности клеток; в растущих тканях возрастные изменения их способности к делению в значительной мере зависят от индуктора пролиферации. В быстро обновляющихся тканях очень важны возрастные изменения в числе стволовых клеток и их способности к пролиферации, что проявляется изменениями в частоте митотических циклов в целом, так и отдельных его фаз (Anisimov, 1987).

Считается, что возрастные изменения в нервной системе и скелетных мышцах играют ведущую роль в развитии функциональных нарушений, наблюдаемых по мере старения. Это особенно приложимо к нервной ткани, которая в силу своей интегративной функции в организме рассматривается как наиболее вероятный кандидат на роль хранителя биологических часов старения и смерти. Данные о старении центральной нервной системы будут рассмотрены нами в главе 6. Здесь же мы рассмотрим данные о возрастных изменениях, наблюдающихся в периферических тканях.

В ряде работ было показано, что с увеличением возраста имеет место убыль числа клеток в некоторых необновляющихся тканях млекопитающих, например в скелетных мышцах и хряще (Martin, 1977). С другой стороны, не было выявлено возрастных изменений в частоте миоцитов сердечной мышцы. Следует отметить, что данные о возрастных изменениях в числе клеток в необновляющихся популяциях весьма немногочисленны и требуют дополнительных исследований (Cameron, Trasher, 1976; Anisimov, 1987).

Сравнительно больше данных о возрастных изменениях пролиферативной активности растущих и обновляющихся тканей. В целом пролиферативная активность большинства клеточных популяций уменьшается с возрастом (Wynford-Thomas, 1999). Это уменьшение проявляется как в снижении митотического индекса, уменьшении числа синтезирующих ДНК клеток, снижении ответа на пролиферативные стимулы, удлинении клеточного цикла и увеличении времени обновления. Пролиферативная активность эпидермиса кожи лица людей монотонно снижалась с возрастом, при этом ее уровень у 70-летних был в 10 раз ниже, чем у 20-летних (Stamatas et al., 2006).

Митотический индекс снижается с возрастом в эпидермисе уха, эпителии слюнных желез, слизистой полости рта, слизистой некоторых отделов кишечника и в эндокринных железах лабораторных животных (табл. 5.2).

В нашей лаборатории методом гистоавторадиографии с использованием <sup>3</sup>H-тимидина была изучена пролиферативная активность различных отделов толстой кишки крыс ЛИО разного возраста (Пожарисский и др., 1980). Было установлено, что в эпителии нисходящей толстой кишки митотический индекс существенно снижается между 4-м и 18-м месяцами жизни животных, тогда как в восходящем отделе толстой кишки возрастных изменений митотического индекса не наблюдается. В то же время индекс метки снижался с возрастом в обоих отделах толстой кишки. Возрастное уменьшение пролиферативной активности эпителия толстой кишки наблюдалось как в

Таблица 5.2

**Возрастные изменения митотического индекса в различных тканях  
(Anisimov, 1987, с дополнениями)**

Орган, ткань	Вид	Сравниваемые возрастные группы (мес./годы)	Влияние возраста
Кожа:	Человек	31—40 и 61—77 лет	↑
эпидермис брюшной стенки		14—75 лет	↓
эпидермис щеки	Мышь	3—6 и 30—33 мес.	↓
эпителий мочки уха			
Эпителий:	Человек	25—34 и 50—78 лет	↑
полости рта	Крыса	1—3 и 30—33 мес.	↓
слезной железы			
Печень	»	1—2 и 6—36 мес.	↓
		5 и 26 мес.	↓
Почки: проксимальные каналцы	»	4 и 38 мес.	↓
Гипофиз	»	1—2 и 9—12 мес.	↓
Щитовидная железа	»	1—2 и 9 мес.	↓
	Морская свинка	1—4 и 12—36 мес.	↓
Паращитовидная железа	Крыса	1—2 и 9 мес.	↓
	Морская свинка	1—4 и 12—36 мес.	↓
Кора надпочечника	» »	1—4 и 12—36 мес.	↓
12-перстная кишка: крипты	Мышь	1—2 и 19—21 мес.	↓
Тонкая кишка: слизистая	»	1—2 и 9 мес.	↓
Нисходящая толстая кишка, крипты	»	4 и 18 мес.	↓
Молочная железа: эпителий	»	Максимум на 50-й день жизни	

дне крипт, так и в области ее максимальной пролиферации, но более всего было выражено в дне крипт нисходящей толстой кишки. Хотя длина крипт оставалась неизменной, индекс меченых ядер для всей популяции эпителия снижался, что было связано с уменьшением числа пролиферирующих клеток (табл. 5.3).

Интересно, что при использовании иммуногистохимического метода (с помощью антител к пролиферативному клеточному ядерному антигену, PCNA) был выявлен более высокий уровень пролиферативной активности эпителия толстой кишки у 12—14 и 22—24-месячных крыс F344, чем у 4—6-месячных животных (Xiao et al., 2001). Это противоречие может зависеть от линейных особенностей животных. Однако есть основания полагать, что при использовании антител к PCNA иммуногистохимическая реакция выявляет также внеплановый, т. е. репаративный, синтез ДНК. Метод с использованием меченого по тритию тимидина, несомненно, дает более надежные результаты.

Следует заметить, что в некоторых других тканях также наблюдали увеличение митотического индекса с возрастом. Например, митотический индекс эпидермиса абдоминальной стенки у людей в возрасте от 2 до 19 лет составлял 0.245, в возрасте от 23 до 39 лет — 0.368, а в возрасте 61—77 лет — 0.489 (Thuringer, Kartzberg, 1959).

Таблица 5.3

Пролиферативная активность эпителия толстой кишки самцов крыс разного возраста (Пожарисский и др., 1980)

Часть толстой кишки	Возраст, мес.	Индекс метки, %			Митотический индекс, %	Средняя длина крипт (в клеточных позициях)
		Дно крипты	Зона максимальной пролиферации	Вся популяция		
Нисходящая толстая кишка	4	64.4 ± 3.7	58.3 ± 3.2	29.6 ± 1.9	17.5 ± 1.3	35.1 ± 3.7
	8—10	35.7 ± 3.9	38.1 ± 3.0	16.9 ± 1.4	9.5 ± 0.9	37.0 ± 0.09
	18	21.8 ± 2.0	30.7 ± 2.1	14.4 ± 1.2	7.0 ± 1.3	31.7 ± 1.4
Восходящая толстая кишка	4	30.3 ± 6.7	39.7 ± 5.5	26.7 ± 3.0	9.6 ± 1.3	24.6 ± 4.4
	8—10	8.7 ± 2.7	19.4 ± 1.8	12.3 ± 1.1	9.7 ± 1.3	28.7 ± 0.2
	18	5.4 ± 1.3	21.0 ± 2.5	13.2 ± 1.1	10.2 ± 1.2	24.0 ± 1.7

Полагают, что показатель синтеза ДНК является более надежным тестом для оценки пролиферативной активности тканей, чем митотический индекс (Cameron, Thrasher, 1976). В табл. 5.4 суммированы данные о возрастных изменениях синтеза ДНК в различных тканях. Можно видеть, что пролиферативная активность (оцениваемая по индексу синтеза ДНК) уменьшается с возрастом в эпителии кишечника, пищевода, почек, печени, стенке альвеол, молочной железы. В базальном слое эпителия языка крысы до 19-го месяца их жизни наблюдается снижение синтеза ДНК, тогда как в более старом возрасте он увеличивается.

Нами было изучено включение радиоактивной метки в ДНК, выделенной из различных органов самок крыс, которым в 3- и 14—15-месячном возрасте вводили <sup>3</sup>H-тимидин (Likhachev et al., 1983). Включение радиоактивной метки снижалось с возрастом в большинстве изученных органов, не изменялось в легких и увеличивалось в матке (табл. 5.5). Эти наблюдения коррелировали с данными об увеличении концентрации эстрадиола и увеличении веса матки у крыс в возрасте 14—15 мес. (Anisimov, Okulov, 1980).

Имеются данные о возрастных изменениях длительности клеточного цикла. У мышей линии САF1 длительность клеточного цикла в эпителии 12-перстной кишки увеличивалась с 11.5 часов у 93- и 372-дневных животных до более чем 15 часов, у мышей в возрасте 940 дней (Leshner, Sasher, 1968). Увеличение времени генерации было обусловлено главным образом удлинением фаз G<sub>1</sub> и S. Кроме того, уменьшалось количество пролиферирующих клеток. Авторы полагают, что изменения этих двух параметров приводят к 50 % уменьшению скорости образования новых эпителиальных клеток.

Продолжительность клеточного цикла в тонкой кишке увеличивалась с 10.1 часа у 55-дневных мышей BDF<sub>1</sub> до 14.1 часа у 300-дневных и до 15.7 часов у 1040-дневных животных (Leshner, 1966). Как и в 12-перстной

**Таблица 5.4**  
**Возрастные изменения синтеза ДНК в различных тканях**  
**(Anisimov, 1987, с дополнениями)**

Орган, ткань	Вид	Сравниваемые возрастные группы, мес.	Влияние возраста
Кожа: эпидермис	Мышь	2 и 12—15	↑
		15 и 25	↓
Пищевод: базальный слой эпителия	»	1—2 и 19—21	↓
Почка: клетки канальцев	»	2 и 13	↓
Печень	Крыса	6 и 24	↓
		2 и 24—36	↓
Язык: базальный слой эпителия	»	3 и 14—15	↓
		2 и 19	↓
Легкое: эпителий стенки альвеол	Мышь	19 и 27	↑
		3 и 12	↓
Легкое	Крыса	12 и 24	
		3 и 14—15	=
Селезенка	»	6 и 23—24	↓
Молочная железа: эпителий	Крыса	Максимум на 50-й день жизни	
Молочная железа	»	3 и 14—15	↓
Матка	»	3 и 14—15	↑
12-перстная кишка: эпителий крипт	Мышь	1—2 и 19—21	↓
Тонкая кишка	Крыса	3 и 14—15	↓
Толстая кишка: эпителий крипт	Мышь	1—2 и 19—21	↓
Толстая кишка	Крыса	3 и 14—15	↓

**Таблица 5.5**  
**Уровень включенного <sup>3</sup>Н-тимидина (расп./мин./мг ДНК),**  
**включенного в ДНК разных органов молодых и старых самок крыс**

Орган	Возраст крыс		Отношение старые/молодые, %	Т
	3 мес.	14—15 мес.		
Тонкая кишка	17062 ± 501	14418 ± 568	-15.5	3.43
Толстая кишка	23736 ± 1222	9007 ± 429	-62.1	11.37
Печень	2815 ± 82	2018 ± 116	-28.3	5.61
Почка	1399 ± 106	1157 ± 33	-17.3	2.18
Легкое	2203 ± 185	2340 ± 92	+0.6	0.05
Молочная железа	4101 ± 318	2055 ± 154	-49.9	5.94
Матка	5951 ± 327	7199 ± 256	+21.0	3.00

Таблица 5.6

**Нарушения пролиферативного гомеостаза при старении человека  
(Martin, 2007)**

Ткань	Патологический процесс
Покровы	Атрофия кожи, старческие «печеночные пятна», себорейный кератоз, базальноклеточный рак, поседение волос и облысение, атрофия апокриновых потовых желез, застойные дерматит, региональная подкожная атрофия и гиперплазия
Органы чувств	Атрофия слезных желез, дегенерация роговицы, катарактогенез, возрастная макулярная дистрофия, снижение слуха, потеря обоняния
Костно-мышечная система	Саркопения, жировая инфильтрация мышц, остеоартрит, остеопороз
Кроветворная/иммунная система	Анемия, миелодиспластические синдромы, лейкоз, лимфома, моноклональная гаммапатия и множественная миелома, аутоиммунные нарушения (например, атрофический гастрит и истинная полицитемия), иммуностарение
Центральная нервная система	Реактивный глиоз, менингеальный фиброз
Сердечно-сосудистая система	Атеросклероз, артериолосклероз, интерстициальный фиброз миокарда
Легкие	Интерстициальный фиброз, эмфизема
Почки	Гломерулосклероз, интерстициальный фиброз
Мужская половая система	Доброкачественная гиперплазия простаты, рак предстательной железы, тестикулярная атрофия
Женская половая система	Атрофия яичников и гиперплазия тека-ткани, атрофия и гиперплазия эндометрия, рак эндометрия, атрофия гладкой мускулатуры и лейомиомы матки
Эндокринная система	Атрофия паренхимы с интерстициальным фиброзом, гиперплазия некоторых типов клеток, аденома
Желудочно-кишечный тракт	Атрофия слизистой и мышечной оболочки, гиперпластические полипы, аденомы и карциномы толстой и прямой кишки

кишке, продолжительность фаз  $G_1$  и  $S$  увеличивалась, тогда как продолжительность фазы  $G_2$  и митоза оставалась неизменной. Кроме того, было обнаружено, что популяция пролиферирующих клеток уменьшилась со 126 клеток на крипту у мышей в возрасте 100 дней до 89 клеток на крипту у 825-дневных животных.

Имеются данные об увеличении времени генерации альвеолярного эпителия легких у некоторых линий мышей (Simnett, Hepplestone, 1966).

В серии работ J. Russo и соавт. (1978, 1980, 2006) показал, что у самок крыс максимум пролиферативной активности эпителия молочных желез наблюдается в возрасте 45—50 дней, то есть в период, непосредственно следующий за их половым созреванием. У женщин, так же как и у лабораторных животных, частота делений эпителия молочной железы максимальна в пубертатный период и затем снижается с возрастом (Calaf et al., 1982).

Количество «темных» клеток в коже мышей, рассматриваемых как стволовые для этой ткани, снижалось с 2.5 % у 1-месячных животных, до 1.6 % у 6-месячных и 0.2 % у 15- и 23-месячных мышей (Klein-Szanto, Slaga, 1981). Этим наблюдениям соответствуют данные о снижении с возрастом в коже человека числа клеток Лангерганса и снижении пролиферативной активности клеток эпидермиса (Смирнова, 2004). Исследования профиля транскриптома в коже людей в возрасте 68—72 лет показало снижение в 2.3 раза экспрессии циклина D1 и увеличение экспрессии циклина E1 в 1.7 раза по сравнению с 3—4-летними детьми (Lener et al., 2006).

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о снижении пролиферативной активности большинства растущих (обратимо постмитотических) и обновляющихся тканей. Однако принципиальное значение имеет тот факт, что во многих тканях старых животных и человека находят очаги пролиферирующих клеток. G. Martin (1979) назвал этот феномен «асинхронным клональным старением». В табл. 5.6 представлены примеры процессов, которые часто обнаруживаются в тканях старых животных и пожилых людей.

В молочной железе самок крыс частота обнаружения гиперпластических альвеолярных узелков увеличивается с 12.5 до 92 % между 150-м и 215-м днями жизни, а количество узелков на 1 молочную железу увеличилось с  $2.0 \pm 0.43$  до  $18.4 \pm 1.2$  за этот же период (Purnell, Stower, 1978). У 24-месячных крыс Вистар число  $\gamma$ -глутамил-транспептидазных (GGT)-позитивных узелков в печени увеличивалось с  $0.03/\text{см}^2$  площади гистологического среза печени до 0.62 у 48-недельных и 2.52 — у 105-недельных животных (Ogawa et al., 1981). Органы кроветворной системы были изучены у более, чем 15 000 мышей 5 линий обоего пола. Частота лимфоидной и ретикулоцелочной гиперплазии лимфатических узлов и селезенки существенно увеличивается с возрастом у всех изученных животных этих линий, особенно после 18-го месяца жизни (Frith, Willey, 1981).

Проблема парадоксальной избирательной клеточной пролиферации, сопровождающейся постепенным возрастным уменьшением репликативного потенциала различных клеточных типов, имеет большое значение (Martin, 1977, 2007). G. Martin полагает, что парадоксальная пролиферация может иметь место, когда асинхронное клональное истощение и старение наблюдается в связанных между собой популяциях дифференцированных клеточных типов.

#### 5.4. ОТВЕТ СТАРЫХ ТКАНЕЙ НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ СТИМУЛЫ

В многочисленных экспериментах была изучена способность печени крыс разного возраста регенерировать в ответ на частичную гепатэктомию. Было показано, что возраст животных существенно изменяет скорость регенерации печени (Bucher, 1963). У крыс в возрасте 22—26 дней синтез ДНК

начинался спустя 16 часов после удаления двух третей печени и достигал пика через 22 часа после операции. За пиком следовало резкое снижение, во время которого большинство клеток прошли фазы G<sub>2</sub> и M клеточного цикла. Затем, через 35 часов после операции, наблюдался второй пик, поскольку другая популяция клеток вступала в фазу S. У 4-месячных крыс синтез ДНК начинался немного позже и достигал пиковых значений, которые были в 2 раза ниже, чем у 22—26-дневных крыс, через 25 часов после операции. У зрелых (12—15-месячных) крыс периоду синтеза ДНК предшествовал длительный лаг-период, скорость синтеза ДНК увеличивалась постепенно и достигала пика через 32 часа, причем, величина этого пика была ниже, чем у 4-месячных крыс. Эти данные свидетельствуют о том, что ответ популяции клеток печени более старых крыс менее синхронизирован, чем у молодых животных.

М. Ю. Оболенская (1976) наблюдала пик включения <sup>3</sup>H-тимидина в ДНК через 32—36 часов после частичной гепатэктомии у старых (24—26-месячных) крыс, тогда как у 6-месячных крыс он выявлялся уже через 24—28 часов после операции. В наших опытах включение <sup>3</sup>H-тимидина в ДНК печени крыс в возрасте 1 и 12—14 месяцев было одинаковым, тогда как частичная гепатэктомия увеличивала ее через 20 часов после операции, соответственно, в 2.2 и 1.4 раза (Bespalov et al., 1984).

По данным В. Я. Бродского и соавт. (2001) амплитуда колебаний синтеза белка в гепатоцитах старых (18-месячных) крыс, оцениваемая по включению <sup>3</sup>H-лейцина, существенно снижалась по сравнению с 1- и 3-месячными животными.

## 5.5. КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ *IN VITRO*

Около 100 лет тому назад в связи с развитием методов поддержания клеток *in vitro* со всей остротой встал вопрос о том, ограничен ли потенциал клеток многоклеточного организма. Классическими стали опыты А. Карреля (рис. 5.4), который культивировал фибробласты сердца куриных эмбрионов в культуре в течение 34 лет, при этом клетки прошли тысячи делений без изменений их морфологического строения или скорости роста. Эти опыты встретили серьезные возражения. В частности, указывалось, что несовершенство методов культивирования приводило к внесению свежих клеток в культуры при каждом их пересеве. Подробный анализ результатов работ А. Карреля дан А. Н. Хохловым (1988), который приходит к выводу, что эти результаты были артефактом, и вместе с тем отмечает безусловный вклад А. Карреля в возникновение цитогеронтологии как самостоятельного научного направления. С другой стороны, онкологам хорошо известны многочисленные штаммы перевиваемых *in vivo* и *in vitro* опухолевых штаммов и линий, которые поддерживаются в течение многих, иногда десятков лет, т. е. их клетки являются практически бессмертными (иммортиализированными). Наряду с этими опытами появились наблюдения о том, что в кле-



Рис. 5.4. А. Каррель (1873—1944).

точных культурах все же не удастся длительно поддерживать клетки, полученные из нормальных, не опухолевых тканей.

В 1961 г. Hayflick и Moorhead представили данные о том, что даже в идеальных условиях культивирования фибробласты эмбриона человека способны делиться только ограниченное число раз ( $50 \pm 10$ ). Было установлено, что при самом тщательном соблюдении всех мер предосторожности при пересевах клетки проходят *in vitro* ряд вполне морфологически различимых стадий (фаз), после чего их способность к пролиферации исчерпывается, и в таком состоянии они могут находиться длительное время. В повторных опытах это наблюдение было многократно воспроизведено, последняя фаза жизни клеток в культуре была уподоблена клеточному старению, а сам феномен получил по имени автора название «предела Хейфлика». Более того, оказалось, что с увеличением возраста донора число делений, которые были способны совершить клетки организма, существенно уменьшалось, что привело к представлению о существовании гипотетического счетчика делений, ограничивающего общее их число (Hayflick, 1998). Однако в ряде работ сообщается, что нет существенной отрицательной корреляции между возрастом донора и числом удвоений нормальных фибробластов человека (Cristofalo et al., 1998). Анализируя причины этих противоречий, А. Maciera-Coelho (2003) обращает внимание на такие факторы, которые могут повлиять на результат, как состояние здоровья донора, уровень окисленных белков в клетках, гетерогенность фибробластов, метод статистической обработки, условия культивирования и некоторые другие. Показано также, что число удвоений фибробластов лучше коррелирует с размерами и массой тела, чем с максимальной продолжительностью жизни вида (Lorenzini et al., 2005).



Для подтверждения гипотезы Хейфлика была изучена корреляция между потенциалом клеточных удвоений *in vitro* и максимальной продолжительностью жизни вида. В одном редко цитируемом исследовании (Stanley et al., 1975) такая корреляция не наблюдалась, тогда как другая работа (Rohme, 1981) часто приводится в подтверждение связи между максимальной продолжительностью жизни и репликативным потенциалом соматических клеток *in vitro*. Как отмечает А. Maciera-Coelho (2003), в том и другом исследовании эмбриональные клетки от одних видов животных сравнивались с постнатальными клетками других видов. Таким образом, убедительные доказательства существования такой корреляции пока не получены.

Репликативное старение не является специфичным для человеческих фибробластов, оно наблюдается в культурах клеток цыплят, черепах и многих клеток млекопитающих (Cristofalo et al., 2004). В настоящее время принято считать, что в отличие от половых и стволовых клеток большинство типов соматических клеток имеет ограниченный пролиферативный потенциал *in vitro*. Наряду с фибробластами этот феномен показан для глиальных клеток, кератиноцитов, гладких мышц сосудистой стенки, клеток хрусталика, эндотелиальных клеток и лимфоцитов (Cristofalo et al., 2004). После ограниченного числа клеточных делений (50—70 для эмбриональных фибробластов человека) нормальные соматические клетки человека переходят в нерепликативное состояние, называемое клеточным старением (senescence), или стадией смертности 1 (M1) (Hayflick, 1998; Wei, Sedivy, 1999). В таких клетках активирована  $\beta$ -галактозидаза, которая не обнаруживается в покоящихся или терминально дифференцированных клетках и рассматривается как маркер клеточного старения (Dimri et al., 1995). Однако некоторым авторам удалось наблюдать экспрессию  $\beta$ -галактозидазы в клетках, находящихся в фазе покоя ( $G_0$ ), и связанную скорее с лизосомальным повреждением, а не со старением (Yegorov et al., 1998; Severino et al., 2000). Установлено, что трансфекция белком большого Т антигена SV40, аденовирусом E1A и белком E1B, или белком вируса папилломы HPV E6/E7, вмешивающихся в регуляторное действие антионкогенов *p53* и *Rb*, существенно увеличивает продолжительность жизни клеток *in vitro* (Shay et al., 1991).

В табл. 5.7 приведены основные характеристики старых клеток *in vitro*.

Морфологически стареющие фибробласты характеризуются увеличением их размеров и уплощением, с одновременным увеличением в объеме ядра и ядрышек, увеличением числа лизосом, элементов Гольджи и цитоплазматических микрофиламентов, появлением вакуолей в цитоплазме и цитоплазматическом ретикулуме. В их популяции увеличивается число многоядерных клеток (Cristofalo et al., 2004).

Стареющие клетки хуже отвечают на ростовые факторы микроокружения, что обусловлено возникающими при их старении дефектами передачи регулирующих сигналов. Об этом свидетельствует, в частности, тот факт, что инфицирование стареющих фибробластов вирусом SV-40 приводит к репликации ДНК, т. е., несмотря на неспособность стареющих фибробла-

**Таблица 5.7**  
**Основные характеристики клеточного старения *in vitro***  
**(Krtolica, Campisi, 2002)**

Тип клеток	Характеристика
Все типы клеток	Необратимая остановка роста
Большинство типов клеток	Увеличение размеров, сглаживание морфологических различий
Большинство типов клеток	Увеличенный биогенез лизосом Уменьшение синтеза белка и его катаболизма Увеличение активности $\beta$ -галактозидазы
Фибробласты	Устойчивость к апоптозу Увеличение экспрессии коллагеназы и стромолизина-1 Увеличение экспрессии фактора, подобного эпидермальному фактору роста EGF (например, херегулина) Снижение синтеза коллагена I и III
Фибробласты, эндотелий	Увеличение синтеза фибронектина Увеличение экспрессии интерлейкина-1 $\alpha$ Увеличение экспрессии ингибитора активатора плазминогена
Клетки эндотелия	Уменьшение экспрессии тимозина- $\beta$ -10
Эпителиальные клетки коры надпочечника	Уменьшение индукции 17 $\alpha$ -гидроксилазы

стов отвечать на сывороточные ростовые факторы, сама система репликации вполне сохранена (Cristofalo et al., 2004).

Более того, были получены данные, свидетельствующие о том, что в старом организме микроокружение угнетает регенеративный и пролиферативный потенциал эмбриональных клеток человека (Carlson, Conboy, 2007).

С увеличением репликативного возраста (числа пассажей) клетки становятся более чувствительными к внешним стрессорам, что частично обусловлено изменениями в экспрессии генов. Предполагается, что репликативное старение возникает как результат воздействия постоянного умеренного стресса на клеточную популяцию, тогда как более интенсивный стресс вместо этого индуцирует апоптоз, а слишком сильный стресс может прямо приводить к некрозу (Soti et al., 2003).

В конце фазы увеличенной продолжительности жизни наступает другая стадия — уменьшения репликативной способности клеток, называемая кризисом или стадией смертности 2 (M2). При этом небольшая, но существенная фракция клеток, находящихся в фазе M2, может подвергаться иммортализации. Полагают, что, хотя уменьшение пролиферативного потенциала при клеточном старении первично вызывается уменьшением способности к клеточным делениям, при кризисе уменьшение пролиферации вызывается увеличением клеточной гибели, что является фактором регуляции клеточного гомеостаза (Wei, Sedivy, 1999).

Таблица 5.8

Показатели пролиферативной активности *in vitro* клеток людей с синдромами прогерии (Хохлов, 1988, с изменениями)

Заболевание	Потенциал УКП	Эффективность клонирования	Интенсивность репликативного синтеза ДНК	Скорость УКП	Насыщающая плотность культуры
Синдром Вернера	30.7 ± 2.9	19.3 ± 3.9	53.3	70.1 ± 2.2	35.0
Синдром Хатчинсона—Гилфорда	47.5 ± 9.3	23.8 ± 7.7	12.4	Данных нет	43.9 ± 20.5
Синдром Дауна	62.2 ± 6.2	Норма	Данных нет	69.8 ± 5.0	75.6
Атаксия—телангиоэктазия	61.8 ± 3.9	59.4 ± 12.0	89.7	74.9	Данных нет
Диабет и «предиабет»	78.6 ± 5.7	71.4 ± 5.5	71.7	70.9 ± 5.8	55.3 ± 6.1

Примечание. УКП — удвоение клеточных популяций.

Установлено, что при серийных трансплантациях некоторых нормальных соматических тканей, таких как кожа или молочная железа, от старых доноров молодым сингенным мышам имеет место постепенное снижение пролиферативной активности в пересаживаемой ткани (Harrison et al., 1978).

А. М. Оловников (2005) предлагает различать три вида клеточного старения:

1) «**репликативное старение**», которое проявляется в делящихся клетках без искусственного вмешательства, вне злокачественного перерождения, необратимо и определяет существование лимита Хейфлика;

2) «**клеточное одряхление**» (это то, что именуют термином senescence), которое в отличие от репликативного старения, наступающего через десятки удвоений, не зависит от пролиферативной предыстории и может наступить буквально через несколько часов, даже в пределах одного клеточного цикла или вскоре после него. «Клеточное одряхление» похоже на своеобразное отравление клетки и при некоторых условиях может быть обратимым;

3) «**репаративное старение**», которое может наступить даже в неделивающейся постмитотической клетке в результате укорочения ее редумера из-за их концевой недорепарации. Репаративное старение отличается от двух других вариантов клеточного старения не только способностью осуществляться независимо от митозов, но и длительным сроком формирования фенотипа старения (например, месяцы персистенции клетки в культуре до появления маркеров старения). Оно обусловлено не ослаблением репаративной системы, а ее принципиальной неспособностью полностью восстанавливать конец линейной молекулы ДНК, т. е. ее последние нуклеотиды. В норме, т. е. без искусственного вмешательства, а также вне малигнизации

ции, такое клеточное старение необратимо, как и репликативное старение (Оловников, 2005).

Фенотип старения, который в конечном счете достигается при всех трех упомянутых выше вариантах клеточных изменений, может быть вызван разными воздействиями, в частности церамидом, ингибиторами топоизомераз, ингибиторами деацетилазы гистонов, 5-бромдезоксидуридином (Оловников, 2005).

Потенциал удвоения клеточных популяций для фибробластов людей с синдромами прогерии значительно снижен (Хохлов, 1988). В табл. 5.8 приведены значения показателей пролиферативной активности в процентах от контроля (клетки здоровых доноров близкого возраста). На основании анализа этих данных А. Н. Хохлов (1988) пришел к выводу, что при прогероидных синдромах наблюдается явная тенденция к уменьшению пролиферативной активности культивируемых клеток, оцениваемой по самым разным показателям. Снижение пролиферативной активности наиболее выражено при синдроме Вернера и синдроме Хатчинсона-Гилфорда. Подчеркивается, что при одних заболеваниях (синдром Дауна, атаксия-телангиоэктазия) все изученные показатели пролиферативной активности снижаются примерно в равной мере, тогда как при других (синдром Вернера, прогерия) — в различной, что позволяет предполагать, что механизмы этого уменьшения различны.

## 5.6. РОЛЬ ТЕЛОМЕР И ТЕЛОМЕРАЗЫ В СТАРЕНИИ

Конечна жизнь, таков закон,  
Быть может, дело в теломере.  
Однако знает только Он,  
Как все на самом деле.  
И нас любовью одарив,  
Сплетает жизни нити.  
И теломерные концы  
Вы в детях повторите.

В. А.

### 5.6.1. Теломераза и теломера: основные свойства

В 1971 г. А. М. Оловников на основании появившихся к тому времени данных о принципах синтеза ДНК в клетках предложил гипотезу маргинотомии, объясняющую механизм работы счетчика делений клетки. Этот механизм заключался, по мнению автора гипотезы, в том, что при матричном синтезе полинуклеотидов ДНК-полимераза не в состоянии полностью воспроизвести линейную матрицу, реплика получается всегда короче в ее начальной части. Таким образом, при каждом делении клетки ее ДНК укорачивается, что, подобно шагреновой коже, ограничивает пролиферативный потенциал клеток и, очевидно, является тем «счетчиком» числа делений и

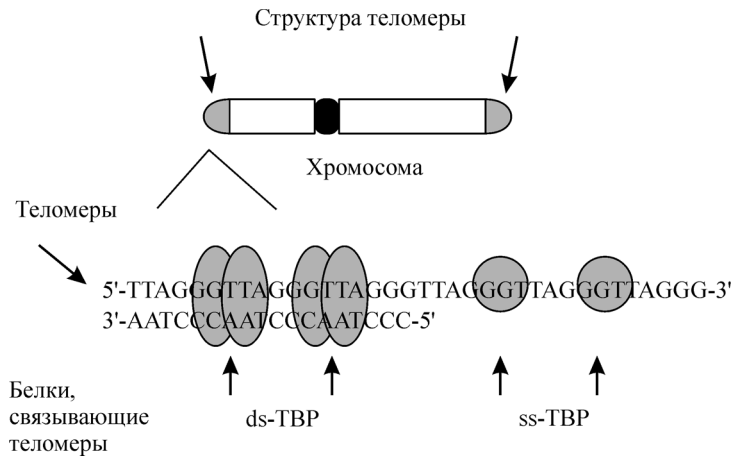


Рис. 5.5 Структура теломеры (Weng et al., 1997).

соответственно продолжительности жизни клетки в культуре (рис. 5.5). В 1972 г. Ж. А. Медведев (Medvedev, 1972) показал, что повторяющиеся копии функциональных генов могут управлять или запускать процесс старения.

Открытие в 1985 г. теломеразы — фермента, который достраивал укороченную теломеразу в половых клетках и клетках опухолей, обеспечивая их бессмертие (Greider, Blackburn, 1985), вдохнуло новую жизнь в гипотезу Оловникова. Было выполнено огромное количество работ, в которых были установлены следующие основные факты (Егоров, 1997; Olovnikov, 1996; Hayflick, 1998; Голубев, 2001; Campisi et al., 2001; Blasco, 2002):

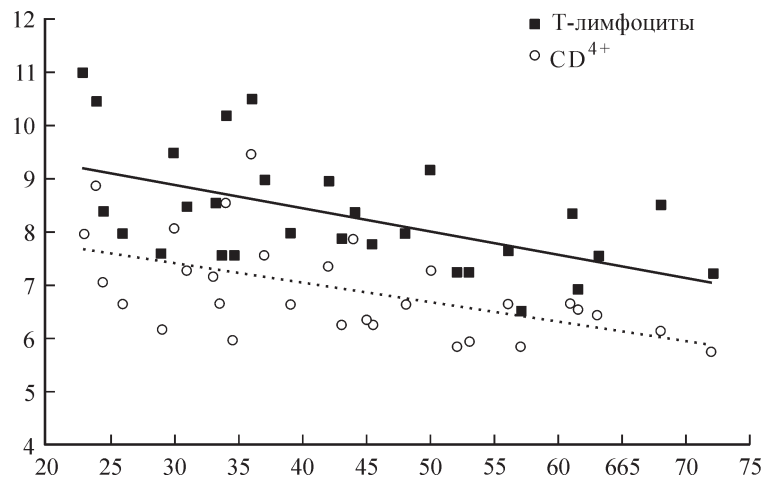


Рис. 5.6. Возрастные изменения длины теломер в лимфоцитах человека (Weng et al., 1997).

1. Концы линейных хромосом с 3'-конца ДНК заканчиваются повторяющимися последовательностями нуклеотидов, получившими название теломер, которые синтезируются специальным рибонуклеиновым ферментом теломеразой.

2. Соматические клетки эукариотов, имеющие линейные хромосомы, лишены теломеразной активности. Их теломеры укорачиваются как в процессе онтогенеза и старения *in vivo*, так и при культивировании *in vitro* (рис. 5.6).

3. Половые клетки и клетки иммортализованных линий, а также опухолей, имеют высокоактивную теломеразу, которая достраивает 3'-конец ДНК, на котором реплицируется комплементарная цепь при делении.

4. Структуры теломер сильно различаются среди простейших, однако у всех позвоночных они одинаковы (TTAGGG)<sub>n</sub>.

5. Имеются существенные межвидовые различия в длине теломер, причем у мыши общая их длина в несколько раз превышает таковую у человека (до 150 тысяч пар нуклеотидов у некоторых линий мышей и 7—15 т. п. н. у человека).

6. Репрессия теломеразы определяет клеточное старение в культуре («лимит Хейфлика»).

7. Клетки больных синдромом преждевременного старения Хатчинсона—Гилфорда и синдромом Дауна имеют укороченные теломеры.

### 5.6.2. Теломера и теломераза у человека

Применив регрессионный анализ данных о скорости укорочения теломер в клетках человека из 15 различных тканей и органов, К. Takubo и соавт. (2002) установили, что они в среднем укорачиваются на 20—60 пар оснований в год. Авторы подчеркивают, что длина теломер не имеет отчетливой корреляции со временем обновления клеток *in vivo* и, скорее, является индивидуальной характеристикой.

Было установлено, что при введении теломеразы в клетки фибробластов человека, которые в норме делятся лишь 75—80 раз, они способны поделиться 280 раз без каких-либо признаков старения и патологии. Тщательное исследование показало отсутствие в этих клетках таких признаков малигнизации, как нестабильность хромосом, независимый от добавления натуральной сыворотки рост, отсутствие контактного торможения и потеря контроля клеточного цикла (Vodnar et al., 1998; Morales et al., 1999) и, что особенно важно, из них не развиваются опухоли при трансплантации бестимусным мышам (Blasco et al., 1997; Jiang et al., 1999). Полученные данные (табл. 5.9) свидетельствуют о том, что экспрессия теломеразы в культуре клеток человека совсем не обязательно вызывает развитие рака, т. е., лишена свойств онкогена, которые ей приписывали. Видимо, основным свойством теломеразы является контроль клеточного деления, а для возникновения опухолевого роста необходимы дополнительные мутации и факторы.

**Таблица 5.9**  
**Иммортализация соматических клеток человека *in vitro* введением *hTERT***  
**(Harley, 2002, с изменениями)**

Тип клеток	Ткань	Возраст донора	Иммортализация
Фибробласты	Легкое Кожа лба Кожа	Эмбрионы	+
		Новорожденные	+
		Здоровые взрослые	+
		Анемия Фанкони	+
		Синдром Блума	+
		Пигментная ксеродерма	+
		Синдром Вернера	+
		Прогерия	+
		Атаксия—телангиоэктазия	+
		Здоровые взрослые	–
Клетки эндотелия	Пупочная вена Артерии аорты, вена голени, синусы печени	Новорожденные	+
		Здоровые взрослые	+
		Капилляры кожи	+
		Молочная железа	–
Кератиноциты	Кожа лба Кожа	Новорожденные	+/-
		Здоровые взрослые	+
Эпителиальные клетки	Бронхи, молочная железа Молочная железа Пигментные клетки сетчатки	Здоровые взрослые	+
		Здоровые взрослые	–
		Дети	+
Меланоциты		Здоровые взрослые	+
Гладкие мышцы		Здоровые взрослые	+
Сателлитные миобласты	Скелетные мышцы	Дети	–
Остеобласты	Кости	Здоровые взрослые	+
Лимфоциты	Кровь, CD8 <sup>+</sup>		+/-
Клетки островков	Поджелудочная железа	Здоровые взрослые	–

Доказательства правомочности такого предположения были представлены Т. Кіуоно и соавт. (1998), которые показали, что введения каталитического компонента теломеразы *hTERT* или теломеразной активности с помощью онкобелка вируса папилломы человека *E7* в кератиноциты или клетки эпителия человека недостаточно для их полной иммортализации. Она наступает лишь при дополнительном торможении регуляции антионкогена *Rb/p16* или при угнетении экспрессии *p16* в качестве второй важнейшей ступени этого процесса. Элиминация антионкогена *p53* таким свойством не обладала. С другой стороны, протоонкоген *c-Myc* может активировать экспрессию теломеразы (Wang et al., 2000). С помощью опосредованного мик-

роклетками переноса маркированную геном *neo* хромосому 20 из стареющих и молодых диплоидных фибробластов человека ввели в молодые фибробласты. Во всех новообразованных клонах наблюдалось уменьшение пролиферативного потенциала на 17—18 удвоений популяции (Егоров, 1997). Авторы склонны рассматривать полученные данные как свидетельство того, что отдельные теломеры способны ограничить пролиферативный потенциал клеток.

Вместе с тем в последнее время появились данные, свидетельствующие о том, что при более длительном поддержании иммортализованных hTERT фибробластов в культуре (500 пассажей) в них развиваются аномалии, которые могут приводить к малигнизации (van Waarde-Verhagen et al., 2006). Авторы полагают, что полученные ими данные заставляют усомниться в безопасности применения hTERT для иммортализации клеток *in vivo*.

В. М. Михельсон (Mikhelson, 2001), критически рассмотрев имеющиеся данные о роли укорочения теломер в старении, полагает, что наблюдаемые противоречия обусловлены репликативным мозаицизмом клеток. Он также указывает, что истощения пролиферативного потенциала клеток в некоторых участках тканей может быть достаточно для возникновения ассоциированных со старением заболеваний. Комбинация постепенно нарастающих с возрастом различных нарушений и представляет собой старение, что противоречит точке зрения Л. Хейфлика, который считает необходимым различать связанные с возрастом заболевания и «чистое» старение.

Т. von Zglinicki (2002) рассматривает гетерогенность репликативного старения как один из существенных моментов этого феномена, причем значительная часть клеток перестает делиться уже после нескольких удвоений, тогда как другая продолжает делиться даже после прохождения «предела» Хейфлика для популяции в целом. Математическое моделирование этого процесса позволило предположить, что быстро стареют и прекращают делиться клетки с наиболее короткими теломерами, и скорость укорочения теломер может быть выше в рано стареющих клетках клона (Agiro et al., 1995). Следует отметить, что этот вывод еще не подтвержден экспериментально. Более того, преждевременное старение может быть индуцировано воздействием самых разнообразных стрессоров, не вовлекающих в этот процесс укорочение теломер (von Zglinicki, 2002).

В работах, специально посвященных вопросу о роли стресса в репликативном старении клеток (Saretzki, von Zglinicki, 2002; von Zglinicki, 2002; Passos, von Zglinicki, 2005), приведены убедительные доказательства укорочения теломер, сопровождающегося укорочением продолжительности жизни клеток *in vitro*, при воздействии мягких стрессоров, например хронической гипоксии, воздействии гомоцистеина, низких доз *tert*-бутилгидропероксида или перекиси водорода. Была обнаружена существенная обратная корреляция между скоростью укорочения теломер и антиоксидантной активностью при исследовании этих показателей различных линий фибробластов человека (Saretzki, von Zglinicki, 2002). Фибробласты с низкой активностью



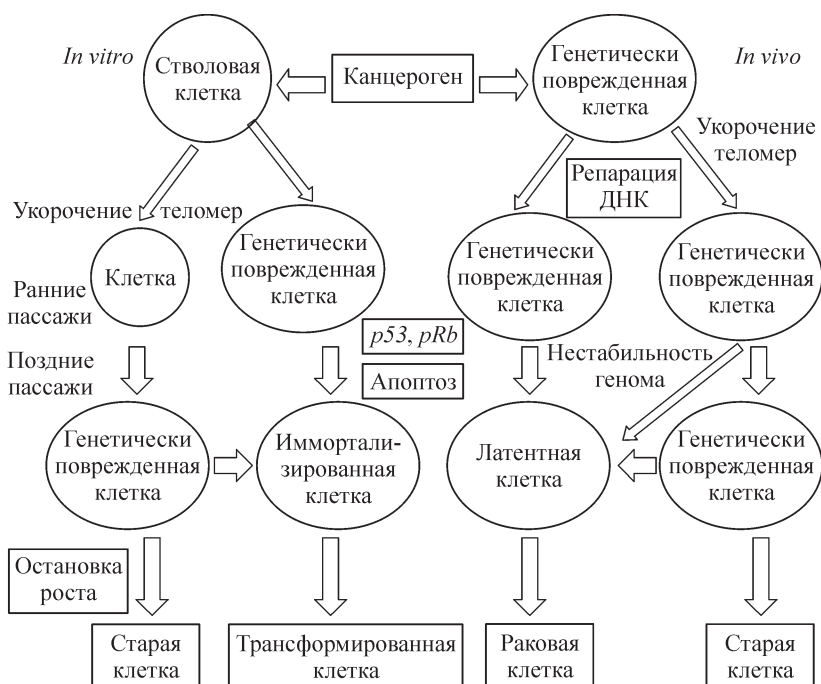


Рис. 5.7. Взаимоотношения между клеточным старением, апоптозом и раком *in vitro* и *in vivo* при окислительном стрессе (Анисимов, 2003).

антиоксидантных систем укорачивали свои теломеры быстрее, чем фибробласты с высокой антиокислительной активностью. В фибробластах человека с низкой активностью этих систем, трансфицированных геном супероксиддисмутазы, замедлялось укорочение теломер и увеличивалась продолжительность жизни этих клеток как в нормальных условиях, так и при гипероксии. Подчеркивается, что антиоксиданты не только останавливают ускоренное укорочение теломер, вызванное окислительным стрессом, но и увеличивают продолжительность репликативной жизни клеток, замедляя процесс укорочения теломер (von Zglinicki, 2002). Предполагается, что укорочение теломер *in vivo* при некоторых заболеваниях, например сосудистой деменции, атеросклерозе или апластической анемии, может быть обусловлено окислительным стрессом, играющим важную роль в их патогенезе. В случае, если это предположение подтвердится, то длина теломер может оказаться хорошим биомаркером кумулятивного воздействия стресса и прогностическим показателем риска заболеваний в пожилом возрасте (von Zglinicki, 2002). Таким образом, может быть, что укорочение теломер является не только счетчиком клеточных делений, но и мутационного процесса, поскольку короткие теломеры запускают старение в ответ на окислительный стресс и нерепарированные мутации. По образному выражению T. von Zglinicki (2002), теломеры действуют как «сторожа» клеток и при повреждении

**Таблица 5.10**  
**Скорость укорочения теломер (пар оснований в год)**  
**в различных тканях человека**  
**(Takubo et al., 2002, с модификациями)**

Ткань	Скорость укорочения теломер, п. о./год	Число наблюдений	Возраст, годы
Клетки периферической крови	33	47	20—85
То же	84	30	4—39
	41	50	40—95
Лимфоциты	41	140	0—107
»	31	123*	2—95
CD4 <sup>+</sup> Т-клетки	35	121	0—94
CD8 <sup>+</sup> Т-клетки	26	121	0—94
CD19 <sup>+</sup> В-клетки	19	121	0—94
Селезенка	29	30	0—102
Фибробласты	15	43	0—93
Интима сосудов	47—147	13	3.5—102
Миокард	НДС**	168	0—102
Кора мозжечка	НДС**	137	0—104
Эпидермальные клетки	19.8	21	0—92
Слизистая пищевода	60	177	0—102
Слизистая желудка	47	38	0—99
Слизистая тонкой и толстой кишок	42	53	0—89
Слизистая толстой кишки	59	129	0—97
Печень	120	23	17—81
»	55	94	0—101
»	60	191	0—104
Мозговой слой почки	9—13	20	0—88
Корковый слой почки	29	24	0—88
Корковый слой почки	46	137	0—101

Примечание. \* — 123 пары близнецов; \*\* — недостоверное снижение.

гена удаляют «опасные» клетки из пула пролиферирующих клеток (рис. 5.7).

Вместе с тем показано, что старение некоторых тканей, например эпителиальных клеток слизистой полости рта или роговицы глаза человека *in vivo*, не сопровождается укорочением теломер (Egan et al., 1998; Kang et al., 2003). Экспрессия белка аденовируса 12 E1В 54К в нормальных клетках человека сопровождалась существенным увеличением их пролиферативного потенциала (до 100 удвоений). Когда затем деления все же прекратились и

клетки перешли в фазу старения, то какого-либо существенного укорочения их теломер выявлено не было (Gallimore et al., 1997). Изучение длины теломер в ДНК различных тканей у людей в возрасте от новорожденных до столетних показало, что она уменьшается на 29—60 пар оснований в год печени, коре почек и селезенке, но не в коре мозжечка или миокарде (Takubo et al., 2002). Наиболее длинные теломеры наблюдались в миокарде и наиболее короткие — в печени или корковом слое почек. Авторы не обнаружили отчетливой корреляции между длиной теломер и временем обновления тканей *in vivo*, и полагают, что длина теломер является скорее индивидуальной характеристикой. Так, в быстро обновляющихся тканях, например в слизистом эпителии желудочно-кишечного тракта, величина укорочения теломер на одно клеточное деление меньше, чем, например, в медленно обновляющемся эпителии печени или почек (табл. 5.10).

Важным наблюдением оказалась высокая степень корреляции между длиной теломер в разных органах отдельных индивидуумов. Так, у лица с большой длиной теломеры в одном органе были длинные теломеры и в других органах. У столетних средняя длина теломер (примерно >8.7 т. п. о. в печени) для пяти органов была всегда большей, чем в фибробластах или эпителиальных клетках, культивируемых *in vitro* (Takubo et al., 2002). Длина теломер в мононуклеарах крови столетних была короче, чем более молодых возрастных группах, и у женщин была больше чем у мужчин (Tsuchi et al., 1999).

Весьма примечательной находкой оказалось обнаружение феномена укорочения теломер в мононуклеарах периферической крови здоровых пременопаузальных женщин, подвергавшихся психологическому стрессу, пропорциональное интенсивности этого стресса (Epel et al., 2004). Укорочение теломер в клетках крови человека наблюдали при остром инфаркте миокарда, коронарном атеросклерозе, сосудистой деменции, увеличении пульсового давления, при остеопорозе, у курильщиков, у лиц с низким социально-экономическим статусом (Beckaert et al., 2005; Erusalimsky, Kurz, 2005; Cherkas et al., 2006). Полагают, что более длинные теломеры могут служить биомаркером «успешного старения» у людей (Aviv et al., 2003). Однако лонгитудинальное исследование длины теломер у 812 человек в возрасте от 73 лет до 101 года не подтвердило гипотезу о том, что длина теломер может быть предиктором предстоящей продолжительности жизни (Bischoff et al., 2006).

Экспрессию активности теломеразы наблюдали в печени крыс после частичной гепатэктомии (Tsujiuchi et al., 1998), т. е. в процессе регенерации. Не удалось наблюдать существенных изменений в продолжительности жизни или развитии мышей с «выключенным» (knockout) геном теломеразы (Lee et al., 1998).

Важно подчеркнуть, что *in vivo* стволовые клетки не имеют репликативного лимита. Расчеты, основанные на данных о длине клеточного цикла, показали, что герминогенные клетки эпителия языка мыши подвергаются 565 удвоениям в течение 2 лет жизни (Cameron, 1972), а стволовые клетки

Таблица 5.11

Количественные отношения между стволовыми клетками и дифференцированными клетками в обновляющихся тканях мыши (Potten, Morris, 1988)

Ткани	Количество делений дифференцированных клеток в течение жизни	Амплификация стволовых клеток	% стволовых клеток в ткани	Продолжительность клеточного цикла стволовых клеток, часы	Количество делений стволовых клеток
Эпителий языка	2—3	4	30	24	1000
Эпидермис	3	8	20	200	100
Слизистая тонкой кишки	4	16	10	24	1000
Кровотворная ткань	7—8	128	1	100—120	200—300
Сперматогенный эпителий	10—12	2000	0.1	>60	400

тонкой кишки мыши проходят от 820 до 2200 удвоений в течение жизни без каких-либо признаков клеточной гибели (Potten, Loeffler, 1990) (табл. 5.11).

В обзоре, посвященном проблеме клеточного старения *in vitro* и *in vivo*, Н. Rubin (1997) пришел к выводу, что нет оснований полагать, что лимит Хейфлика имеет место в самообновляющихся тканях *in vivo* и играет какую-либо роль в старении организма. Реально наблюдаемой характеристикой старения *in vivo* является уменьшение интенсивности клеточной пролиферации в большинстве тканей животных (Anisimov, 1987; Baserga, 1977; Rubin, 1997, 2002). Отмечается увеличение длительности клеточного цикла и его вариабельности с возрастом.

Вопрос о соответствии клеточного старения и старения тканей *in vivo* был специально рассмотрен Р. J. Hornsby (2002, 2007). Он разделяет точку зрения, согласно которой клеточное старение является феноменом, имеющим место только в культуре клеток, и не может рассматриваться как адекватная модель старения *in vivo*. Основные выводы, к которым пришел автор, следующие.

Во-первых, укорочение длины теломер, которым опосредуется клеточное (репликативное) старение, наблюдается во многих тканях человека при старении. Длина теломер в большинстве тканей человека коротка, потому что в них отсутствует теломераза, необходимая для поддержания их длины. Отсутствие теломеразной активности определяется отсутствием экспрессии каталитической субъединицы теломеразы (TERT) рибонуклеопротеидного комплекса теломеразы. Во-вторых, неясно, приводит ли именно укорочение теломер к клеточному старению или некоторым другим ситуациям, в которых может оказаться клетка, например, кризису. В-третьих, накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что клетки грызунов не являются адекватной моделью клеточного старения человека. Выявлены существенные различия в биологии теломер мыши и долгоживущих видов (например, человека или коровы). В-четвертых, необходимо более глубокое

изучение старения тканей человека для выявления старых клеток в этих тканях, разработка новых экспериментальных подходов к исследованию последствий укорочения теломер.

При делении клетки в отсутствие теломеразы недореплицируется примерно 40—100 т. п. о. После того как нормальная клетка человека поделится определенное число раз, которое зависит от типа клеток и условий культивирования, ее теломеры укорачиваются настолько, что они запускают остановку клеточного цикла, приводя клетку в терминальное неделяющееся состояние. Именно его называют «клеточным старением». Однако в настоящее время появились доказательства того, что клетка может переходить в биохимически подобное состояние, не обязательно связанное с укорочением теломер. Поэтому в настоящее время под клеточным старением понимают процесс, который побуждает клетку к переходу в это «старое» состояние вне зависимости от того, вовлечено в этот процесс укорочение теломер или нет (Hornsby, 2002). Другой часто используемый термин — «репликативное старение» — более определенно связан с клеточным старением, обусловленным укорочением теломер (обозначается также как M1). При репликативном старении дальнейшее деление клетки блокируется такими ингибиторами клеточной пролиферации, как p21<sup>SDH1/WAF/CIP1</sup> и p16<sup>INK4A</sup> (Smith, Pereira-Smith, 1996; Marcotte, Wang, 2002). В тех случаях, когда репликативное старение прерывается онкобелком, например антигеном SV40T, клетки избегают этого состояния и переходят в другое, называемое кризисом, или M2. В этом состоянии самые короткие теломеры подвергаются слиянию конец в конец и циклам разрывов и слияний хромосом, которые переводят клетки в состояние апоптоза и соответственно приводят к гибели значительной части клеток, не наблюдающейся при репликативном старении (M1).

Клетки в культуре могут переходить в состояние клеточного старения под влиянием различных факторов окружающей среды, таких как окислительный стресс, ионизирующая радиация или эктопическая секреция некоторых сигнальных молекул и циклин-зависимых ингибиторов киназы (Marcotte, Wang, 2002). Поскольку эти воздействия могут вовлечь клетку в процесс старения без укорочения теломер, этот процесс следует отличать от его следствия — репликативного старения. Поэтому вопрос о клеточном старении в целом может быть разделен на несколько отдельных вопросов: наблюдается ли укорочение теломер *in vivo* и приводит ли оно к репликативному старению; если в тканях действительно формируются старые клетки, то как долго они могут находиться в ткани и являются ли они результатом репликативного старения или какого-то иного процесса? Ответ на первые два вопроса вполне положителен, тогда как гораздо меньше доказательств реального существования старых клеток в тканях *in vivo* (Hornsby, 2002).

Считается, что наиболее существенным доказательством накопления по мере старения *in vivo* старых клеток в тканях является обнаружение окрашивающихся SA-βgal<sup>+</sup> (галактозидазой) клеток в коже человека, и у макак-резусов — в пигментном эпителии сетчатки и в эпидермисе. В этих тка-

ных имеет место пропорциональное возрасту донора увеличение числа старых клеток (Hornsby, 2002). Однако механизм возникновения таких клеток остается неясным. Неизвестно также, в какой мере изменения в экспрессии генов в этих клетках *in vivo*, соответствуют изменениям в экспрессии, наблюдаемым при репликативном старении *in vitro*. Полагают, что убедительные доказательства того, что старые клетки накапливаются в тканях организма с возрастом, до настоящего времени отсутствуют (Troen, 2003). Выяснение этих вопросов представляется весьма важным, поскольку предполагается, что эти изменения могут приводить к формированию микроокружения, благоприятствующего развитию новообразований (Campisi, 2001; Krtolica et al., 2001; Krtolica, Campisi, 2003). Этот аспект проблемы будет подробнее рассмотрен в главе 11.

Следует подчеркнуть, что клеточное старение является универсальным процессом, развивающимся как реакция клеток млекопитающих в ответ на повреждения определенного типа, включающие укорочение теломер. С точки зрения эволюционной теории клеточное старение представляется загадочным феноменом (Hornsby, 2002). Виды повреждений, которые побуждают клетку переходить в состояние старения, весьма сходны с теми, которые запускают апоптоз. С эволюционных позиций для организма и генома в целом вхождение клетки в апоптоз весьма целесообразно, поскольку при этом удаляется поврежденная клетка, которая могла бы передать своим потомкам потенциально поврежденные копии генома. Поэтому остается неясным, почему в организме, в котором ежедневно рождаются и умирают миллионы клеток, имеет место клеточное старение, а не только апоптоз. Многие в этой области еще предстоит выяснить. Тем не менее очевидно, что опыты с теломеразой открывают новые перспективы как в геронтологии, так и в онкологии для диагностики рака и, что особенно важно, для его лечения.

### **5.6.3. Видовые особенности биологии теломеры и теломеразы: мышшь против человека?**

Мышь — наиболее часто используемое в качестве модели биологии человека животное. У лабораторных мышей (*Mus musculus*) теломеры длинные — от 30 до 200 т. п. о. и гипервариабельны. В отличие от человека теломераза активна во многих тканях мыши (Wright, Shay, 2000). Следует особо остановиться на вопросе, который в последнее время интенсивно обсуждается в литературе, а именно вопросе о различиях в регуляции и роли теломер в клеточном старении человека и животных, в частности мыши. В соматических клетках мыши теломераза более экспрессирована, чем в клетках человека, чему соответствует значительно бóльшая длина теломер у мыши по сравнению с человеком. Это наблюдение может объяснять тот факт, что продолжительность жизни дефицитных по теломеразе трансгенных мышей не уменьшается существенно по крайней мере на протяжении трех последовательных поколений (Rudolph et al., 1999) и свидетельствует

против существования причинной связи между длиной теломер и процессом старения.

Интересно, что у некоторых линий мышей, полученных из дикой природы (*Mus spretus*), длина теломер не превышает таковую у человека (Hermann, Greider, 2000). Однако в некоторых тканях этих мышей обнаруживается активность теломеразы. Несмотря на то что теломеры в фибробластах, полученных от *Mus spretus*, быстро укорачиваются при каждом делении, высокая частота клеток с повышенной теломеразной активностью приводит их к иммортализации. При сравнении инбредных мышей *Mus musculus* линии C57BL/6J и линии CAST/Ei (средняя продолжительность жизни  $25 \pm 4.8$  и  $22 \pm 5.5$  мес. соответственно) длина теломер оказалась существенно различной: 30—120 т. п. о. и 18—20 т. п. о. соответственно, что свидетельствует против гипотезы о связи длины теломер с продолжительностью жизни. Авторы установили также, что у аутбредных мышей ICR, Black Swiss и Swiss Webster длина теломер сильно варьирует и не отличается существенно от таковой у инбредных мышей. Эти наблюдения противоречат точке зрения, согласно которой инбридинг может быть одной из причин элонгации теломер у высокоинбредных мышей (Manning et al., 2002). Показано также, что в каждой клетке мыши могут быть обнаружены теломеры, не превышающие по длине 10 т. п. о., т. е. сравнимые по длине с теломерами человека (Zijlmans et al., 1997).

Мышинные эмбриональные фибробласты могут подвергаться репликативной блокаде при нормальных условиях культивирования, что, однако, не наблюдается при низком парциальном давлении кислорода (Parrinello et al., 2003). Полагают, что в совокупности эти данные свидетельствуют о том, что, во-первых, репликативное старение клеток мыши вызывается «культуральным шоком» и, во-вторых, остановка делений в мышинных клетках не зависит от длины теломер (Davis, Kipling, 2005). Было показано также, что при культивировании мышинных фибробластов в атмосфере с 20 % кислорода клетки подвергались репликативному старению, сменяющемуся спонтанной иммортализацией, при этом частота мутаций дополнительно увеличивалась в 3 раза по сравнению с эмбриональными клетками, причем большинство мутаций было представлено трансверсиями G:C → T:A. Когда же кислорода было 3 %, мышинные фибробласты не старели, а частота мутаций и их спектр оставались на уровне первичной культуры (Busuttill et al., 2003). Эти наблюдения свидетельствуют о том, что окислительный стресс оказывает повреждающее влияние на геном мышинных клеток при их репликативном старении и иммортализации.

Показано, что эмбриональные стволовые клетки, полученные от мышей с нокаутированным каталитическим элементом теломеразы (*terc*<sup>-/-</sup>) перестают делиться после 450 удвоений *in vitro*, имея при этом существенно укороченную теломеру (Niida et al., 1998). Это наблюдение свидетельствует о том, что мышинные клетки могут также перестать делиться в связи с укорочением теломер. При этом потеря функции теломер в поздних поколениях *terc*<sup>-/-</sup> мышей сопровождается развитием у них типичных признаков обыч-

ного старения. Зависимое от возрастного укорочения теломер, связанное с укорочением продолжительности жизни, оно является дополнительным аргументом в поддержку гипотезы теломерной теории старения (Rudolph et al., 1999). Эти мышцы также стерильны, что обусловлено неспособностью их герминогенных клеток делиться и пролиферировать. Однако мышцы *terc*<sup>-/-</sup> не демонстрируют полной картины старения человека. Кроме того, укорочение теломер у этих мышечей запускает процесс клеточной гибели, т. е. процесс, противоположный репликативному старению.

Хотя предполагается, что длина теломер играет роль в старении прежде всего пролиферирующих тканей, недавно было установлено, что она может быть важна и для постмитотических клеток. Так, оказалось, что трансгенные нематоды *C. elegans* с более длинными теломерами живут на 20 % дольше и в два раза устойчивее к тепловому шоку, чем контрольные животные (Joeng et al., 2004).

Большой длиной теломер объясняют большую частоту спонтанных новообразований у мыши, чем у человека (Miller, 1991). Однако частота спонтанных опухолей у мышечей различных линий весьма варьирует (см. главу 11) и зависит от их генетической предрасположенности. В то же время у неинбредных мышечей, например линии SHR или беспородных крыс, кумулятивная частота опухолей достигает 30 %, т. е. составляет величину такого же порядка, как и рассчитанную для человека (Anisimov, 1987).

Что существенно, мышца более чувствительна к оксидативному стрессу, у нее менее эффективны системы репарации ДНК и она более чувствительна к действию большинства известных канцерогенных агентов, чем человек (Anisimov, 1987). По-видимому, различие в длине теломер не является ведущим фактором в этом феномене.

Следует также заметить, что число удвоений фибробластов лучше коррелирует с размерами и массой тела, чем с максимальной продолжительностью жизни вида (Lorenzini et al., 2005). Была также показана положительная корреляция между длиной теломер и массой тела у животных разных видов, а не видовой продолжительностью их жизни (Suluyunov et al., 2007). У представителей отряда *Lagomorphs* (кролики и зайцы Старого и Нового Света) как лабораторных, так и взятых из дикой природы, наблюдали очень длинные теломеры, и их длина не укорачивалась при пассировании клеток в культуре (Forsyth et al., 2005).

У крысы (*Rattus norvegicus*) длина теломер составляет от 20 до 100 т. п. о. При культивировании клеток микроглии выявлена прогрессирующая утрата теломер. Однако в астроцитах крысы этого укорочения не наблюдается. Сообщают об укорочении теломер в эпителии хрусталика, микроглии в мозжечке и коре головного мозга, а также сердце, почках, легких, поджелудочной железе и печени старых крыс *in vivo* (Davis, Kipling, 2005). Вместе с тем имеются отдельные сообщения об отсутствии укорочения теломеры в почках и головном мозге у крыс при старении. В опухолях у крыс находят повышенную активность теломеразы, что свидетельствует об ее участии в иммортализации крысиных клеток. Кроме того, активность тело-



меразы обнаруживается в некоторых нормальных соматических тканях, а присущая шванновским клеткам крыс в норме активность теломеразы ассоциирована с неспособностью этих клеток к репликативному старению *in vitro* (Mathon et al., 2001).

Теломеры у китайских хомячков (*Cricetulus griseus*) сравнимы по длине с мышинной теломерой, тогда как в эмбриональных клетках сирийских хомячков (*Mesocricetus auratus*) длина теломер не превышает 23 т. п. о. При культивировании этих клеток *in vitro* не наблюдается укорочения теломер, несмотря на то что после 20—30 удвоений наступает репликативное старение, сходное с таковым в культуре клеток человека (Carman et al., 1998). Этот эффект можно объяснить постоянной экспрессией теломеразы, происходящей при росте этих клеток. Полагают, что клеточное старение у сирийских хомячков не зависит от длины теломер. При этом в иммортализованных клетках хомячков присутствует активность теломеразы.

Длина теломер у кроликов и зайцев существенно варьирует — от 20—80 т. п. о. у белых европейских кроликов (*Oryctolagus cuniculus*), 20—50 т. п. о. у калифорнийского кролика Джека (*Lepus californicus*), 2—5 т. п. о. и более 50 т. п. о. у болотного кролика (*Sylvilagus aquaticus*) и 2.5—20 т. п. о. у кролика Пика (*Ochotona princeps*), фибробласты которого могут удваиваться более 200 раз при культивировании в атмосфере с содержанием 2—5 % кислорода (Forsyth et al., 2005). Теломеры укорачиваются *in vitro* в клетках как Европейского кролика, так и кролика Пика, однако теломераза выявлена только в клетках кролика Пика. Авторы полагают, что кроличьи клетки не используют механизм, связанный с укорочением длины теломер при репликативном старении *in vitro*.

Вместе с тем, поскольку клетки кролика имеют очень длинные теломеры, которые явно укорачиваются при делении клеток, возможно, что они проявят управляемую теломерами остановку репликации при длительном культивировании. Таким образом, кроличьи клетки в чем-то сходны с фибробластами нокаутных *terc*<sup>-/-</sup> мышей, которые прекращают пролиферировать после 450 удвоений, когда их теломеры укорачиваются (Niida et al., 1998).

Длина теломер у макак резус (*Macaca mulatta*), японских макак (*Macaca fuscata*), обезьян-крабоедов (*Macaca fascicularis*), орангутангов (*Pongo pygmaeus*), шимпанзе (*Pan troglodytes*) и гориллы (*Gorilla gorilla*) составляет 15—23 т. п. о., которая в некоторых органах даже превышает таковую у человека. Однако длина теломер у некоторых видов обезьян — паукообразных обезьян (*Ateles geoffroyi*), беличьих обезьян (*Saimiri sciureus*), макак резусов, орангутангов и банобо (*P. paniscus*), находится в пределах от 4 до 16 т. п. о., т. е. очень близка к размерам теломер человека (Steinert et al., 2002). Кроме того, у многих обезьян клетки при культивировании *in vitro* способны пройти от 32 до 100 удвоений, а скорость укорочения теломер у них составляет 30—200 т. п. о. за удвоение (Steinert et al., 2002), т. е. сравнимы с таковыми у человека. Напротив, у длиннохвостых обезьян (*Lemur catta*) имеется две популяции повторов теломер: одна длиной от 5 до

50 т. п. о., а другая  $< 2$  т. п. о. Теломеры лемуров интенсивно укорачиваются при каждом удвоении клеток, но клетки не подвергаются репликативному старению.

Укорочение теломер со скоростью 62.7 п. о. в год наблюдали *in vivo* у обезьян-крабоедов и свинохвостых обезьян (*Macaca nemestrina*) в периферических мононуклеарах крови, у шимпанзе, а также у бабуинов (*Papio gamadryas cynocephalus*). У нечеловекообразных обезьян тканевое распределение длины теломер сходно с таковым у человека, у человекообразных обезьян оно неизвестно, однако их фибробласты не содержат теломеразы. Теломераза человека успешно иммортализирует фибробласты от обезьян нескольких видов, и в иммортализованных линиях фибробластов, полученных от японских обезьян, выявлена теломеразная активность (Davis, Kipling, 2005).

Кроме грызунов, наиболее изученными млекопитающими являются собаки (*Canis familiaris*) и овцы (*Ovis aries*). У собак теломеры состоят из больших гетерогенных повторов длиной от 12 до 28 т. п. о. с минимумом около 3 т. п. о. (Nasir et al., 2001). Близкой к этим оценкам является длина теломер в фибробластах легочной ткани и тестикул барана (Davis et al., 2005). Фибробласты овцы и собаки имеют ограниченный потенциал делений в культуре. Скорость укорочения теломер варьирует от 30—300 п. о./удвоение у овец и составляет 167 п. о. за удвоение у собак. Укорочение теломер с возрастом *in vivo* выявлено у отдельных пород собак (например, у миниатюрного шнауцера), но не выявлено у ряда других. Распределение в тканях теломеразной активности у собак неотчетливо — иногда она обнаруживается, иногда — нет, иногда ограничивается клетками герминогенных линий и иммортализованными клетками, или ее находят в соматических клетках нескольких нормальных тканей (Davis, Kipling, 2005). Имеется много сообщений о высокой активности теломеразы в опухолях собак. Клетки кожи и легкого барана негативны по теломеразе, но клетки тестикул — позитивны. Эктопическая экспрессия hTERT наблюдается в иммортализованных овечьих фибробластах.

Приводятся данные о сходных с человеком размерах теломеры и скорости ее укорочения с возрастом у лошадей, ослов, коров, кошек (Davis, Kipling, 2005). Средняя длина теломер обратно коррелирует с возрастом у ослов, что свидетельствует об укорочении у них теломер *in vivo*. Длина теломер у свиньи (*Sus scrofa*) варьирует от 9 до 50 т. п. о., она одинакова в разных тканях эмбрионов поросят и уменьшается в разных тканях с возрастом. Активность теломеразы не выявляется в фибробластах коровы или различных соматических клетках кошки и различных ослов. Однако активность теломеразы в соматических клетках у свиньи такая же, как и у мышей, TERT мРНК экспрессируется во многих клетках кошек. Кроме того, теломеразная активность присутствует в иммортализованных клеточных линиях лошадей, но не в саркоматозных тканях или папилломах у них (Argyle et al., 2003), и обнаруживается в большинстве опухолей кошек (Davis, Kipling, 2005).

Таблица 5.12

Сведения о длине теломер, распределении теломеразы в организме и продолжительности жизни животных разных видов *in vivo* и их клеток *in vitro* (Davis, Kipling, 2005, с изменениями и дополнениями)

Вид	Продолжительность жизни, лет	Длина теломер, т. п. о.	Число	Число изученных тканей с экспрессией теломеразы			Репликативное старение фибробластов <i>in vitro</i> (при 20 % O <sub>2</sub> )
				всего	+	-	
<b>Приматы</b>							
Приматы	100	10—15		11	3	8	+, а
Шимпанзе	21	15—23; 4—16		1	—	1	+
Макака	26—40	15—23; 4—16	30—200	12	4	8	+
Лемур	35	<2; 15—20		1	—	1	+
<b>Грызуны</b>							
Мышь	2.5	30—200		11	11	—	+, б
Крыса	3.5	20—100		8	8	—	+, с
Хомячок		23; 30—200		1	1	—	+, д
Кролик	15	2 до >80		1	1	—	Нет данных
<b>Другие млекопитающие</b>							
Кошка		5—20; 60—70		5	—	5	+
Корова		10—15		3	1	2	+
Олень	14 лет	10—15		1	—	1	+
Собака	9—10	12—23	167	10	5*	5	+
Лошадь	46	10—15		6	—	6	+
Свинья		10—15; 10—30		10	7	3	+
Овца		12—23	30—300	3	2	1	+
<b>Птицы</b>							
Курица	12	8—20; >50		10	10**	—	+

Примечание. ФБ — фибробласты; (+) — присутствует; (–) — отсутствует; (±) — возможны оба варианта; а — остановка репликации при 3 % O<sub>2</sub>; б — иммортализация при 3 % O<sub>2</sub>; с — шванновские клетки иммортализируются при 20 %; д — эмбриональные клетки. \* — в одной из тканей данные противоречивы; \*\* — в двух тканях данные противоречивы.

Выявлены две популяции теломерных повторов в клетках цыплят (*Galus domesticus*): одна — близкая по длине к человеческой (8—20 т. п. о.), и другая — более 50 т. п. о., которые распределены между терминальной и интерстициальной локализациями в хромосомах (Delany et al., 2003). Скорость укорочения фибробластов цыплят к культуре клеток находится в пределах таковой у человека (59 п. о. за одно деление), и после 32 делений они впадают в репликативное старение. Уменьшение длины теломер было обнаружено при увеличении возраста животных. Теломераза может быть активна в трансформированных клеточных линиях и опухолях цыплят, индеек и

перепелок (Swanberg, Delany, 2003). Эти наблюдения свидетельствуют о том, что некоторые аспекты теломерных часов весьма консервативны у птиц. Распределение теломеразной активности в тканях цыпленка сходно с таковым у мышей, хотя и подавлено в культурах некоторых типов клеток, что позволяет сделать вывод о том, что цыплята не являются идеальной модельной системой для человека.

В целом все эти наблюдения (табл. 5.12) свидетельствуют о том, что не следует переоценивать роль длины теломер при анализе взаимосвязи видовой продолжительности жизни и ассоциированной с возрастом патологии.

### 5.7. МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ (МСК) И СТАРЕНИЕ

О, если б было вновь возможно  
На мир лицом к лицу взглянуть  
И безраздумно, бестревожно  
В мгновеньях жизни потонуть!

*Валерий Брюсов*

Мультипотентные стволовые клетки тканей взрослых организмов привлекли пристальное внимание исследователей сравнительно недавно. Термин «мезенхимальные стволовые клетки» (МСК) был предложен Caplan (Gao et al., 2001), сославшегося на работу Friedenstein и соавт. (1970), в которой описывались прикрепленные к пластмассовой подложке фибробласты, выделенные центрифугированием в перколле, реагировавшие на антитела SH2 и SH3. Теоретически к МСК можно отнести как кроветворные клетки, так и клетки собственно соединительной ткани. Однако на практике только последние обычно описывают как происходящие из МСК, отличая от кроветворных стволовых клеток (КСК), которые ответственны за развитие, поддержание и регенерацию кроветворной ткани (Sethe et al., 2006). Полагают, что как МСК, так и КСК, имеют общего предшественника — «гемангиобласта» в клетках, называемых по-разному: «мезодермальные предшественники», «мультипотентные взрослые предшественники», «плюрипотентные стволовые клетки» или «тканекоммитированные стволовые клетки», что, впрочем, достаточно спорно, и физиологическое значение этих клеток еще необходимо установить (Sethe et al., 2006). Следует отметить, что МСК составляют лишь 0.01—0.001 % от общего числа клеток костного мозга.

Изучение экспрессии транскрипта в клетках, полученных из эмбриональных, нервных и гематопозитических клеток мыши, показало, что лишь небольшая часть генов экспрессируется в клетках всех трех типов стволовых клеток (Kania et al., 2005). Но именно эти гены определяют их «стволовость», т. е. свойства поддерживать самообновление и давать дифференцированное потомство. К этим генам авторы относят гены, регулирующие передачу сигнала и транскрипцию, TGF- $\beta$ , Notch, клеточный цикл, высокую

устойчивость к стрессу, эффективность репарации ДНК, детоксицирующие ферментные системы, систему убиквитина, фолдинг белка, ремоделирование хроматина, а также гены, действующие на ДНК геликазы, ДНК метилазы и ацетилазы гистонов.

Клетки с негематопэтическим потенциалом могут дифференцироваться в различных направлениях, включая дифференцировку в остеобласты, адипоциты, хондроциты, миобласты и ранние предшественники нервных клеток. Такие клетки можно выделить из сосудов пупочного канатика, соединительной ткани, кожи, синовиальной жидкости, жировой ткани и даже зубов, но обычно их берут из костного мозга. Номенклатура этих клеток тоже довольно непостоянна и включает самые разнообразные названия, такие как «колониеобразующие фибробласты», «стромальные (стволовые) клетки», «негематопэтические стволовые клетки», «костномозговые стволовые клетки», «скелетные стволовые клетки» и др. Некоторая неопределенность вокруг МСК связана с тем, что нет единодушия в определении специфических маркеров этих клеток. В отсутствие универсальных антигенных маркеров (аналогичных CD34<sup>+</sup> для КСК) и универсальных методов идентификации (аналогичных репулационным тестам для КСК), МСК часто идентифицируют, просто тестируя их способность к дифференцировке в культуре в так называемые колониеобразующие единицы (colony forming units, CFU), показательные для оценки пролиферативной способности и дифференцировке в различные ткани. Кроме того, важными характеристиками МСК являются их способность прикрепляться к подложке и фибробластоподобная морфология (Васильев, Гельфанд, 1981). В последнее время с МСК ассоциируют некоторые поверхностные маркеры, такие как D7fib, CD45 и гликофорин А, BMPR1a и др. (Sethe et al., 2006). Заканчивая подробный обзор проблемы идентификации МСК, авторы дают свое определение их как «постэмбриональные, происходящие из костного мозга клетки, естественно способные к мультипотентной дифференцировке в соединительную ткань не-гематопэтического ростка, особенно кости, связки, сухожилия, волокна, хрящ и жировую ткань».

### 5.8. МАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

К признакам старения МСК *in vitro* относят их увеличение в размерах по отношению к более молодым клеткам, при этом они уплощаются, содержат больше волокон актина. МСК, полученным от пациентов пожилого возраста, не свойственно формирование веретенноклеточной морфологии в культуре, которая типична для мезенхимальных стволовых клеток, полученных от молодых доноров на ранних пассажах и постепенно ее утрачивающих при последующем длительном культивировании. Отмечено, что в линиях МСК, иммортализованных вирусом SV40 или трансфекцией теломеразой, клетки имеют меньшие размеры, чем клетки, из которых они произошли (Sethe et al., 2006).

Полагают, что число колониобразующих единиц (КОЕ) и средний размер колоний при старении обычно уменьшаются, однако некоторые исследователи не склонны к такому выводу, особенно в отношении к клеткам человека. Способность МСК к дифференцировке в различные типы тканей может изменяться при старении. При этом отмечают как снижение с возрастом такой способности, так и отсутствие возрастных изменений этой характеристики стволовых клеток. Интересно, что эффективность дифференцировки в ту ткань, в которую пересаживали МСК в процессе культивирования, существенно снижается (Rombouts, Ploemacher, 2003).

Одним из признаков старения *in vitro* является уменьшение способности клеток к делению. В противоположность эмбриональным стволовым клеткам (ЭСК), которые в недифференцированном состоянии не теряют пролиферативного потенциала вне зависимости от числа делений, максимальное число удвоений популяции МСК не превышает 30—40. Уменьшение репликативной продолжительности жизни, связанное с возрастом донора, было свойственно соматическим клеткам, а также МСК (Rubin, 2002). Однако L. Liu и соавт. (2004) не подтвердили это наблюдение. Имеются убедительные данные об уменьшении с возрастом средних размеров колоний (Sethe et al, 2006). Крупные колонии МСК обычно состоят из веретеноподобных клеток, тогда как небольшие колонии часто представлены распластанными на подложке клетками. Ряд наблюдений свидетельствует о том, что МСК снижают способность к пролиферации *in vitro* (Sethe et al., 2006).

Отмечают, что при укорочении теломер до некоторой определенной длины клетки перестают делиться и начинается процесс репликативного старения. Постепенное укорочение теломеры интерпретируется как регулятор клеточной продолжительности жизни и рассматривается как механизм предупреждения рака. Возрастное укорочение теломер наблюдали в остеобластах, миоцитах и хондроцитах (Sethe et al., 2006). В МСК наблюдается та же тенденция, причем подсчитано, что клетки *in vitro* теряют теломеры с такой же скоростью, что и нестволовые клетки (30—120 пар оснований/репликативное удвоение). Интересно, что теломеры хондроцитов и остеобластов были длиннее, чем теломеры МСК, из которых они произошли.

Теломераза — фермент, нейтрализующий постепенную утрату теломер, синтезируя теломерные повторы *de novo* (Greider, Blackburn, 1985). Кроме раковых клеток, активность теломеразы наблюдается в половых зародышевых клетках, эмбриональных стволовых клетках и, в некоторой степени, взрослых клетках, таких как КСК, нейрональные стволовые клетки, стволовые клетки кожи и стволовые клетки крипт кишечного эпителия. Активность теломеразы подавляется после того, как стволовые клетки начинают дифференцироваться.

В мышечных миоцитах активность теломеразы с возрастом уменьшается (Torella et al., 2004). Большинство хрящей у взрослых людей не экспрессируют теломеразу, однако пролиферирующие взрослые хондроциты ее экспрессируют. Пре-адипоциты, предшественники остеобластов и эмбриональные фибробласты человека проявляют теломеразную активность при про-

лиферации *in vitro* (Sethe et al., 2006). Данные об экспрессии теломеразы в МСК довольно противоречивы. Полагают, что клетки с активной теломеразой являются очень редкой субпопуляцией МСК.

Активность  $\beta$ -галактозидазы ( $\beta$ -GAL) обычно ассоциирована с репликативным старением *in vitro*. Было показано, что МСК мышей с нокаутированной теломеразой, подвергаются преждевременному клеточному старению (Liu et al., 2004). Активность  $\beta$ -галактозидазы была увеличена в МСК человека, находящихся на поздних пассажах при культивировании *in vitro*, однако не было различий между МСК, полученных от молодых и старых доноров (Stenderup et al., 2003). Эти наблюдения свидетельствуют о необходимости с осторожностью использовать  $\beta$ -GAL в качестве маркера клеточного старения *in vivo* (de Magalhaes, 2005).

Репликативное клеточное старение сопровождается продукцией множества различных веществ, включая протеазы, цитокины и ростовые факторы, которые действуют на расстоянии в тканях и изменяют клеточное микроокружение (Campisi, 2003). К молекулам, секретируемым стареющими клетками, относят металлопротеиназы, воспалительные цитокины и ростовые факторы (Krtolica, Campisi, 2003).

При рассмотрении связи между старением и МСК необходимо различать два взаимодействующих компонента: влияние старения на сами мезенхимальные стволовые клетки и вклад МСК в старение организма. Именно в определении, является ли старение внутренним свойством МСК (эндогенная теория), или эти клетки перестают пролиферировать из-за изменений в их микроокружении (экзогенная теория), состоит основная проблема. В целом имеются достаточно веские данные в поддержку экзогенной теории. Соответственно показано, что трансплантация МСК от старых доноров менее эффективна, чем стволовых клеток от молодых доноров (Rauscher et al., 2003). Вместе с тем, если экзогенная теория более убедительна, то при пересадке клеток возраст реципиента должен бы быть более важным, чем возраст донора. Образование КОЕ при культивировании МСК из костного мозга от старых мышей, имплантированных молодым мышам, превосходит наблюдаемое их число при имплантации старым реципиентам почти в три раза (Friedenstein et al., 1992). Количество содержащих ядра клеток в костно-мозговых трансплантатах от мышей SAMP с ускоренным старением увеличивалось более чем в два раза, когда реципиентами были нормальные мыши вместо мышей SAMP (Friedenstein et al., 1992). Парабиоз молодых и старых мышей существенно улучшал регенерацию мышц у старых мышей (Conboy et al., 2005). В целом представленные данные свидетельствуют о том, что костный мозг представляет собой множество дискретных, но взаимодействующих между собой систем, каждая из которых подвергается возрастным изменениям, и каждая может влиять на активность МСК. Следует упомянуть, что каждая кость является в некоторой степени «индивидуальным» органом, и часть регуляторных связей между клетками костного мозга (как и самой костной ткани) осуществляется сугубо на местном уровне. В связи с этим физиологические параметры популяций МСК могут

Таблица 5.13

## Классификация различных типов старения взрослых мезенхимальных стволовых клеток (Sethe et al., 2006, с изменениями)

Тип мезенхимальных стволовых клеток (MSC)	Способность к дифференцировке	Репликативное старение	Теломераза	Самообновление
Соматические клетки	–	+	–	–
Разрушающиеся MSC	+	+	–	–
Персистирующие MSC	+	+	+	+
Вечные MSC	+++	–	+++	+

несколько различия даже для разных костей в пределах одного организма. Поэтому, видимо, следует достаточно осторожно интерпретировать старение МСК в терминах как эндогенной, так и экзогенной теории.

Сравнительный анализ показывает, что имеются доказательства существования трех различных типов старения МСК: 1) изменения в количестве; 2) изменения в качестве (способности к дифференцировке/регенерации) и 3) изменения в мобилизационной способности (Sethe et al., 2006). Авторы предлагают делать различие между типами МСК, которые подвергаются репликативному старению, присущему соматическим клеткам («разрушающиеся» МСК), при котором они: а) имеют более ограниченный пролиферативный потенциал; б) лишены способности к неограниченному самообновлению; в) ограничены лимитом Хейфлика, и г) подвергаются репликативному старению, включая механизм, который, в частности, основан на инактивации теломеразы. К другим типам МСК относят менее подверженные репликативному старению, но все же стареющие «персистирующие» МСК, и редко встречающиеся избегающие старения МСК (так называемые «вечные МСК») (табл. 5.13).

Как справедливо указывают S. Sethe и соавт. (2006), в такой «амальгаме» клеток, которые подвергаются нормальному старению, устойчивы к старению (замедленное старение) и, видимо, резистентны к старению, в геронтологии будут продолжать получать различные данные по мере внедрения новых улучшенных методов их идентификации и стандартизации. Следует также понимать, что старение МСК не может быть надежно выявлено в «монокультуре» *in vitro*. Микроокружение не может только модулировать дифференцировку МСК, но также влияет на их регенерационный потенциал при старении (Rando, 2006). МСК являются в одно и то же время субъектом старения и причиной старения организма. МСК непосредственно и прямо подвергаются старению, поскольку подвергаются в течение своей жизни различным стрессовым воздействиям, таким как окислительный стресс и генетические повреждения, и непрямо, поскольку окружающие ткани становятся молчащими со временем, лишая активирующих сигналов, тем самым приводя к снижению способности МСК к дифференцировке. Возрастные изменения свойств МСК (такие, как снижение их способности к под-



Таблица 5.14

**Предполагаемые маркеры для исследования старения  
в мезенхимальных стволовых клетках (Sethe et al., 2006, с изменениями)**

Процесс	Маркер
Усиление репликативного старения	p53 p16 RB, супрессорный опухолевый белок Numb (notch угнетенный) NFκ ICAM-1
Увеличение повреждения	Частота хромосомных aberrаций Содержание карбониллов Содержание TBARS Содержание липофусцина Митохондриальные мутации 8-окси-гуанидиновые мутации ДНК
Уменьшение защитного эффекта	Активность ферментов репарации ДНК Активность антиокислительных ферментов Экспрессия белков теплового шока при стрессе

держанию популяции прогениторных клеток соответствующих линий) являются, в частности, одной из причин старения на тканевом и органном уровне, когда их способность к замещению прогениторных клеток приводит к функциональным нарушениям (Sethe et al., 2006). В полной мере роль стволовых клеток в старении еще только предстоит оценить. В табл. 5.14 приведены рекомендации для будущих исследований экзогенных и эндогенных факторов старения стволовых клеток.

### 5.9. КРОВЕТВОРНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И СТАРЕНИЕ

Кроветворные стволовые клетки (КСК) представляют собой наиболее примитивные клетки крови, которые способны дифференцироваться в любую из обширного репертуара клеток крови. В ряде работ изучались возрастные изменения пролиферативного потенциала КСК. С этой целью использовали трансплантацию определенного количества очищенных КСК от молодых и старых мышей-доноров молодым реципиентам, после чего оценивался вклад донорских клеток в развитие В-, Т-лимфоидных и миелоидных клеток. Было установлено, что общая способность КСК, полученных от старых доноров, к воспроизводству клеток-потомков, снижена по сравнению с таковой КСК, полученных от молодых мышей. Особенно это касалось способности давать рост периферическим В-лимфоцитам, однако генерация миелоидных Cd11b<sup>+</sup> (Mac1<sup>+</sup>) клеток при этом увеличивалась (Rossi

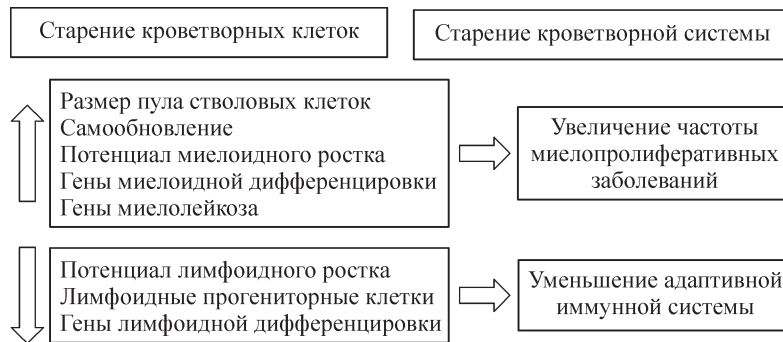


Рис. 5.8. Модель старения кроветворных стволовых клеток (Rossi et al., 2007, с изменениями).

et al., 2005). При изучении роли микроокружения в костном мозге для пролиферативного потенциала КСК клетки от молодых доноров авторы имплантировали молодым и старым реципиентам. Оказалось, что микроокружение в костном мозге старых мышей не оказывает существенного влияния на способность КСК молодых доноров производить В-клетки. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что наблюдаемое при старении снижение В-лимфопоэза не обусловлено старением микроокружения в костном мозге мышей.

Анализ экспрессии транскриптома стволовых клеток крови, полученных от молодых и старых мышей, показал, что с возрастом угнетается экспрессия генов, регулирующих лимфоидную специализацию и функцию кроветворных клеток, тогда как увеличивается экспрессия генов, отвечающих за дифференцировку клеток миелоидного ряда (Rossi et al., 2005, 2007). Таким образом, при старении наблюдается сдвиг гемопоэза от лимфопоэза в сторону миелопоэза, что сказывается в целом на функции кроветворной системы в пожилом и старческом возрасте (рис. 5.8).

Следует отметить, что старение КСК у мышей сопровождается усилением экспрессии большого числа генов, которые вовлечены в развитие миелоидных лейкозов, включая такие протоонкогены, как *Fgfr1*, *Aml1*, *Pml* и *Eto* (Rossi et al., 2005, 2007). Эти данные позволяют объяснить результаты Р. Ebbesen (1971), который трансплантировал молодым мышам клетки селезенки, тимуса и лимфоузлов от сингенных молодых и старых доноров и обнаружил, что частота развившихся у реципиентов ретикулосарком была пропорциональна возрасту донора, но не реципиента.

## 5.10. ПРИЧИНЫ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ *IN VITRO*

Как упоминалось выше, клеточное старение впервые было описано как процесс, который ограничивает пролиферацию клеток человека в культуре. Лимит Хейфлика в значительной мере обусловлен потерей теломер, в тех

случаях, когда клетки не экспрессируют теломеразу при репликации ДНК (Wright, Shay, 2001). Потеря теломер вызывает нестабильность генома, что является важным фактором риска для злокачественной трансформации (Blasco, 2002). Таким образом, при опасности нестабильности генома, клеточное старение вследствие укорочения теломер приводит к остановке роста клеток, что соответствует его роли в опухолевой супрессии (Campisi, 2005).

Однако можно привести примеры относительной разобщенности процесса клеточного старения и состояния теломер. Например, нормальные диплоидные эмбриональные клетки золотистого хомячка экспрессируют теломеразу, тем не менее они подвергаются старению после 20—30 популяционных удвоений, после чего они прекращают пролиферировать, увеличиваются в размерах, в них обнаруживается  $\beta$ -галактозидаза, которую рассматривают как маркер клеточного старения, развивается неспособность фосфорилировать белок RB и входить в S-фазу клеточного цикла в ответ на стимуляцию сывороткой (Carman et al., 1998). При этом активность теломеразы остается весьма высокой и средняя длина теломер не уменьшается. Клеточное старение можно вызвать даже в иммортализованной линии клеток HeLa (Goodwin, DiMaio, 2001). Этого удается достичь, несмотря на высокую активность теломеразы, и на фоне сильно удлиненных теломер, если ингибировать экспрессию генов вируса папилломы человека добавлением к клеткам HeLa бычьего транскрипционного регуляторного белка, запуская при этом сигнальные пути опухолевых супрессоров p53 и Rb.

Ряд внешних факторов может вызывать репликативное старение клеток. Среди них перекись водорода, *tert*-бутилгидропероксид, ультрафиолетовое или  $\gamma$ -облучение, оксимочевина и другие (Cristofalo, 2004). Индуцируемое этими агентами преждевременное старение можно вызвать не только в нормальных фибробластах человека, но и в иммортализованных инсерцией hTERT фибробластах и полностью трансформированных клеточных линиях (de Magalhaes et al., 2002; Gorbunova et al., 2002; Schmitt, 2003). А. М. Оловников (2005) полагает, что экспрессия человеческой теломеразы не предотвращает старение сублетально стрессированных клеток, потому что возникающие при таких воздействиях разрывы ДНК приводят к аномальной релаксации хромосомной ДНК и потерям крупных блоков ДНК, как это было показано в теломерах (von Zglinicki et al., 2000).

В. Горбунова и соавт. (Gorbunova et al., 2002) установили, что популяция иммортализованных hTERT нормальных фибробластов человека содержит от 3 до 20 % клеток с выраженными признаками старения. В этой субпопуляции клеток была повышена теломеразная активность, повышен уровень p21 и гипофосфорилированного белка RB, в то время как длина теломер одинакова с длиной теломер успешно иммортализованных клеток той же культуры. Эти наблюдения позволили сделать вывод, что опасной для клеток может быть и чрезмерная теломеразная активность.

В последние годы установлено, что наряду с дисфункцией теломер многие другие события и стимулы, повышающие риск злокачественной транс-

формации клетки, также могут вызывать клеточное старение. К этим событиям относят повреждения ДНК, нарушения в структуре хроматина, экспрессию некоторых онкогенов, которые определяют супрафизиологический уровень митогенных сигналов, а также избыточную экспрессию некоторых опухолевых супрессорных генов (Campisi, 2005). Наиболее активными опухолевыми супрессорными генами являются гены, кодирующие компоненты, входящие в супрессорные пути белков p53 и pRB, которые оба являются критически важными для клеточного старения (Shay et al., 1991; Brin-gold, Serrano, 2000; Campisi, 2001, 2005).

### 5.11. СТАРЕНИЕ *IN VITRO* ПРОТИВ СТАРЕНИЯ *IN VIVO*

Существует ли какая-нибудь связь между долголетием и репликативным старением в культуре клеток? Большинство имеющихся данных свидетельствует о том, что ответ на этот вопрос должен быть отрицательным. Однако если вопрос сформулировать несколько иначе: имеется ли связь между процессом старения и репликативным старением *in vitro*, — то такую возможность нельзя исключить (Patil et al., 2005).

Полагают, что поскольку старческий фенотип приводит к функциональным изменениям, которые могут нарушать структуру и функцию тканей, при накоплении в них так называемых старых клеток (senescence cells), эти клетки могут прогрессивно усиливать эти нарушения, тем самым приводя к тем изменениям структуры и функции, которые характеризуют старение организма (Campisi, 2005).

Соответствуют ли изменения, наблюдаемые в клетках *in vitro*, изменениям, происходящим при естественном старении *in vivo*? Показано, что число удвоений клеток в культуре обратно коррелирует с видовой продолжительностью жизни в ряду позвоночных (Rohme, 1981). Между возрастом донора и репликативной продолжительностью жизни *in vitro* имеет место отрицательная зависимость (Hayflick, 1998). Эту зависимость наблюдали при изучении клеток нескольких типов, включая гепатоциты, кератиноциты, гладкомышечные клетки артерий. Клетки, взятые у новорожденных мышшей, продолжительность жизни которых три года, делятся примерно 15 раз; взятые у новорожденных цыплят, которые живут 12 лет, делятся около 25 раз; человеческие клетки делятся примерно 50 раз; клетки галапагосской черепахи, имеющей максимальную продолжительность жизни, равную 175 годам, делятся около 110 раз (Hayflick, 1998).

Вместе с тем было установлено, что если тщательно производить биопсию и отбирать только здоровых доноров, то корреляцию между клеточным старением фибробластов человека в культуре и возрастом доноров обнаружить не удастся (Cristofalo et al., 1998). Клеточные культуры, полученные от доноров, страдающих различными заболеваниями, такими как сахарный диабет, синдромы Вернера (прогерия взрослых) и Дауна, также

характеризуются уменьшенным пролиферативным потенциалом (Hayflick, 1998). Однако при синдроме Хатчинсона—Гилфорда (прогерия детей) такого уменьшения не наблюдали (Brown, 1990).

Сравнение изменений в профиле экспрессии генома при старении *in vitro* и *in vivo* показало, что существенное сходство наблюдается только у мышей, тогда как у человека такого сходства не обнаружено (Wennmalm et al., 2005). Авторы полагают, что старение индивидуальных клеток не является существенным для старения тканей человека. Такой же точки зрения придерживается и ряд других исследователей (de Magalhaes et al., 2005; Aranda-Anzaldo, Dent, 2007).

Следует отметить, что клеточное старение является необязательным последствием пролиферации в культуре. Так, шванновские клетки обладают неограниченным потенциалом к удвоению *in vitro*, тогда как фибробласты, выделенные из тех же нервов, подвергаются классическому репликативному старению, наблюдаемому в фибробластах грызунов (Mathon et al., 2001). Фибробласты эндотелиальных клеток пупочной вены человека останавливаются в G1 фазе клеточного цикла, но в отличие от фибробластов подвергаются зависимой от возраста тетраплоидизации и апоптотической клеточной гибели, тем самым существенно отличаясь от резистентных к апоптозу старых фибробластов (Wagner et al., 2001). Некоторые другие клетки-предшественники грызунов (например, олигодендроциты) также имеют неограниченный пролиферативный потенциал, когда в культуре поддерживаются условия, устраняющие как дифференцировку, так и блокаду клеточного цикла (Tang et al., 2001). С другой стороны, пролиферативный потенциал некоторых эпителиальных тканей (кожа, хрусталик, пигментный эпителий сетчатки, кора надпочечников), а также неэпителиальных тканей (клетки гладкой мускулатуры, остеобласты и хондроциты) существенно уменьшается с возрастом (Hornsby, 2002). Другим примером являются эндотелиальные клетки и миоциты. Длина теломер в клетках эндотелия уменьшается с возрастом. Большое укорочение теломер наблюдается в клетках с большей пролиферативной активностью *in vivo*.

Несмотря на огромное число публикаций по репликативному старению за последние более чем 40 лет, следует признать, что нет ясности в вопросе о соответствии исследований старения *in vitro* старению, происходящему в организме (Cristofalo et al., 2004; de Magalhaes, 2005; Aranda-Anzaldo, Dent, 2007). По мнению V. Cristofalo и соавт. (2004), не существует метода определения или оценки репликативной продолжительности жизни фибробластов в культуре, который бы поддерживал прямую зависимость между репликативной способностью *in vitro* и возрастом взрослых доноров. Широко распространенное мнение о существовании определенной связи между репликативной продолжительностью жизни *in vitro* и возрастом донора в качестве доказательства прямой приложимости результатов, полученных на фибробластах в культуре клеток, к старению организма, весьма уязвимо. Тот факт, что эта зависимость недостаточно воспроизводима, уже может привести к однозначному выводу о том, что модель репликативного старе-

ния не имеет отношения к изучению процесса старения. Более того, несмотря на то что данные об инвертированных взаимоотношениях между возрастом донора и пролиферативным потенциалом широко используются для обоснования применимости модели клеточных культур, из этой зависимости не следует, что это модель старения *in vivo*. Известно, что оригинальные предположения Л. Хейфлика о том, что старение клеток в культуре является моделью старения, были высказаны еще до того, как появились данные о корреляции между возрастом донора и пролиферативным потенциалом клеток (Cristafolo et al., 2004).

Тем не менее использование клеточных культур позволяет исследовать многие механизмы изменений, которые предсказуемо и воспроизводимо наблюдаются в клетках при постоянных условиях и под воздействием различных внешних факторов. И, несомненно, исследования *in vitro* играют важную роль для понимания многих процессов, происходящих в организме, в частности при старении *in situ*.

## 5.12. НАКАПЛИВАЮТСЯ ЛИ СТАРЕЮЩИЕ КЛЕТКИ В ТКАНЯХ ПРИ СТАРЕНИИ *IN VIVO*?

Вопрос, вынесенный в заголовок этого раздела, еще не получил окончательного ответа, поскольку число маркеров, которые позволяют идентифицировать стареющие клетки, крайне невелико. Наряду с чисто морфологическими признаками стареющей клетки, используется в качестве маркера наличие нейтральной (pH 6.0)  $\beta$ -галактозидазы, которую часто называют ассоциированной со старением  $\beta$ -галактозидазой (senescence-associated  $\beta$ -galactosidase, SA-Bgal) (Dimri et al., 1995). Экспрессия этого фермента строго коррелирует, хотя и не исключительно, с индукцией клеточного старения любым из известных к настоящему времени факторов в самых различных клеточных культурах (Carmisi, 2005). Поскольку SA-Bgal легко выявляется *in situ* гистохимически, этот маркер был использован для поиска клеток со старческими характеристиками *in vivo*. Такие клетки были обнаружены в некоторых тканях человека и грызунов (табл. 5.15). Важно подчеркнуть, что их число увеличивается с возрастом у человека — в коже, предстательной железе, печени и сосудистом эндотелии, у обезьян — в коже и сетчатке глаза, у грызунов — в почках (Dimri et al., 1995; Mishima et al., 1999; Pendegrass et al., 1999; Choi et al., 2000; Ding et al., 2001; Paradis et al., 2001; Vasile et al., 2001; Melk et al., 2003; Erusalimsky, Kurz, 2005). Клетки со свойствами стареющих были обнаружены в атеросклеротических бляшках (Vasile et al., 2001), доброкачественных и премалигнизированных разрастаниях в печени и предстательной железе (Choi et al., 2000). Несомненно, что этих наблюдений недостаточно для суждения об универсальности этого явления. Однако есть основания полагать, что их можно будет обнаружить в большинстве тканей в определенное время и в определенных местах.

Таблица 5.15

**Выявление стареющих клеток *in vivo* с помощью окраски на  $\beta$ -галактозидазу в различных тканях млекопитающих**

Орган/ткань	Патология/стресс	Тип клеток	Ко-экспрессия других маркеров
<b>Человек</b>			
Кожа	Старение	Фibroбласты, кератиноциты	p16
Предстательная железа	»	Эпителиальные клетки	
Молочная железа	Опухоль, повреждение ДНК, индуцируемое химиотерапией	Эпителиальные опухолевые клетки	
Печень	Цирроз печени	Гепатоциты	Укорочение теломер
Почка	Старение	Эпителий канальцев	Липофусцин, p16 <sup>INK4a</sup>
Аорта	Атеросклероз	Эндотелий	Тимозин- $\beta$ 10
Коронарная артерия	»	»	
Артерии	»	Гладкомышечные клетки сосудов	p53, IL-1 $\beta$
<b>Обезьяна</b>			
Глаз	Старение	Эпителий сетчатки	
Кожа	»	Фibroбласты	Дисфункция теломер, активация репарации ДНК, p16, гетерохроматин
Скелетная мышца	»	Поперечно-полосатая мышца	
<b>Кролик</b>			
Каротидная артерия	Индукцированная ангиопластикой неоинтима	Эндотелий, гладкомышечные клетки сосудов	
<b>Крыса</b>			
Почка	Старение	Эпителий канальцев	p16 <sup>INK4a</sup>
Аорта	Диабет	Эндотелий	
<b>Мышь</b>			
Лимфома	Избыточная экспрессия bcl2, химиотерапия	Лимфоидная опухоль	PML
Печень	Дефицитные по теломеразе, регенерация после гепатэктомии	Гепатоциты	Укорочение теломер
Печень	Разрыв теломер угнетением TRF-2	»	
Почка	Старение	Эпителий канальцев	Липофусцин, p16 <sup>INK4a</sup>

Недавно были получены данные о накоплении с возрастом в коже обезьян бабуинов пострепликативных «стареющих» клеток (фибробластов) *in vivo* (Herbig et al., 2006). Авторы использовали в качестве маркеров клеточного старения такие показатели, как дисфункция теломер, активация репарации ДНК в культуре АТМ-киназой и гетерохроматинизация ядерного генома. Было установлено, что стареющие клетки могут быть идентифицированы *in vivo* и их количество может достигать 15 % всех клеток у старых животных. Полагают, что поскольку гетерохроматинизация запускает как репликативное, так и индуцированное онкогенами клеточное старение, и является необратимым процессом, она приводит к глубоким изменениям в экспрессии генов. Соответственно присутствие стареющих клеток в интактных тканях с такой высокой частотой может иметь весьма драматические физиологические последствия. В скелетных мышцах (постмитотические клетки) выявлялось лишь весьма незначительное число стареющих клеток, причем их число не зависело от возраста донора (Jeyapalan et al., 2007).

Как уже отмечалось выше, в ряде исследований не удалось обнаружить накопления стареющих клеток в тканях лиц пожилого и старческого возраста (Robbins et al., 1970; Severino et al., 2000; Cristofalo, 2004, 2005). V. I. Cristofalo (2005) полагает, что старческого фенотипа тканей, сопровождающегося увеличением окраски  $\beta$ -галактозидазой, либо не существует в любом возрасте, либо такие клетки *in vivo* быстро погибают.

### 5.13. АПОПТОЗ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ

Я познание сделал своим ремеслом,  
Я знаком с высшей правдой и с низменным злом,  
Все тугие узлы я распутал на свете,  
Кроме смерти, завязанной мертвым узлом.

Омар Хайям

Установление роли соматических мутаций и репарации ДНК в механизмах старения ставит вопрос об их непосредственной связи с процессами дифференцировки, запрограммированной клеточной гибели (апоптоз) и злокачественного роста. Если у одноклеточных организмов лишь репарация поврежденных ДНК позволяет им выжить при изменении условий окружающей среды, то у *Metazoa* оптимальная стратегия в отношении клеток, несущих повреждения ДНК, не столь однозначна, поскольку некоторые мутации в генах, регулирующих клеточную пролиферацию, адгезию и апоптоз, могут приводить к развитию злокачественных новообразований, ведущих к гибели организма. Поэтому для организма в целом «безопаснее» иметь механизмы элиминации таких генетически поврежденных клеток, чем риск возникновения очагов неконтролируемого автономного роста. Выбор конкретной «стратегии» организма — репарации ДНК, блокады пролиферации или апоптоза, зависит во многом от типа клеток, их локализации, микроок-



ружения, характера повреждающего фактора и степени повреждения. В любом случае эффективный ответ на повреждение ДНК является ключевым звеном для выживания многоклеточного организма.

В 1982 г. С. Р. Уманский высказал предположение, что старение может быть следствием плейотропного действия генов, ответственных за реализацию запрограммированной клеточной гибели (апоптоза). Проявление активности этих генов приводит к постепенной убыли так называемых «критических» популяций клеток (в первую очередь клеток нервной системы), что, в сущности, и ведет к проявлению многих сторон старения (Уманский, 1982). Другую точку зрения на роль апоптоза в старении высказали R. A. Lokshin и Z. F. Zakeri (1990), полагавшие, что снижение жизнеспособности организмов является результатом самодеструкции клеток, индуцируемой различными факторами окружающей среды.

Считается, что участие апоптоза в процессе старения может реализовываться двумя способами, причем, если первый, заключающийся в элиминации посредством апоптоза поврежденных стареющих клеток, которые впоследствии могут быть заменены путем клеточной пролиферации, обеспечивает сохранение тканевого гомеостаза, то второй, при котором удаляются постмитотические клетки, которые не могут быть возобновлены (например, кардиомиоциты, нейроны), приводит к развитию патологии (Warner, 1997).

В. П. Скулачевым (Скулачев, 1997; Skulachev, 1999, 2001, 2002) высказано предположение, что механизм, аналогичный апоптозу и названный им «митоптозом», реализуется на субклеточном уровне, и касается, в частности, элиминации митохондрий, продуцирующих избыточное количество супероксида. Подобно этому запрограммированную смерть организмов предлагается обозначать термином «феноптоз». Феноптоз элиминирует из популяции наиболее уязвимых индивидуумов, что эволюционно оправдано, так как «расчищает место» для наиболее устойчивых и тем самым повышает эволюционный потенциал вида. Старение, согласно развиваемой концепции, является более мягким типом феноптоза (растянутым во времени и допускающим некоторую степень компенсации), чем острый феноптоз. Примером последнего может служить гибель лосося немедленно после оплодотворения икры.

В последние годы достигнут значительный прогресс как в изучении самого феномена запрограммированной клеточной гибели (апоптоза), так и в понимании молекулярных механизмов его реализации и регуляции (Пальцев, 1999; Хансон, 1999; Зайнуллин, Москалев, 2001; Green, Evan, 2002; Zhang, Herman, 2002; Scorrano et al., 2003). Установлена ключевая роль антионкогена *p53* в этом процессе. Опосредованная *p53* остановка пролиферации в стадии  $G_1$  или  $G_2$  клеточного цикла необратима. Такая клетка хотя и не погибает, но генетически она уже «мертва», поскольку не способна к развитию опухоли. Реализации такого эффекта *p53* предшествует индукция циклин-зависимого ингибитора киназы *p21*. Менее ясна роль *p53* в стимуляции собственно апоптоза. Установлено, что мишенями для *p53* является несколько специфических генов, таких как антагонист гена *Bax* ген *Bcl2*, ре-

Таблица 5.16

**Экспрессия индукторов и ингибиторов апоптоза  
при старении млекопитающих  
(Зайнуллин, Москалев, 2001, с изменениями)**

Экспрессия при старении	Индукторы апоптоза	Ингибиторы апоптоза
Повышается	<i>p53</i> , <i>TNF-α</i> , <i>Fas</i> , <i>Fas-L</i> , <i>Bak</i> , ДНКаза I, <i>SGP-2</i> , катепсин В, $Ca^{2+}$ , АФК, β-амилоидный пептид, церамид, <i>IGF BP-3</i>	<i>Bcl-2</i> в фибробластах
Уменьшается	<i>Bax</i>	<i>Bcl-2</i> в лимфоцитах, мелантонин

цептор инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), связывающий белок IGF-ВР3, компоненты ренин-ангиотензин конвертирующей системы и белки, регулирующие ангиогенез (Evan, Littlewood, 1998). Более того, в некоторых случаях показано участие в этом процессе трансэкспрессии генов антиапоптоза и даже некоторых нетранскрипционных механизмов. Выявлено также, что *p53* участвует в реакции клетки на воздействия, которые не повреждают непосредственно ДНК, например при метаболической депривации, физических травмах, тепловом шоке, гипоксии и экспрессии таких онкогенов как *Myc* и *E1A*. Экспрессия многих генов, участвующих в контроле апоптоза, с возрастом повышается, тогда как некоторых уменьшается (табл. 5.16).

Выше уже обсуждалась модель клеточного старения Хейфлика и роль теломер и теломеразы в продолжительности жизни клеток *in vitro*. Использование этой модели оказалось весьма плодотворным для изучения механизмов репликативного старения. Прекращение способности клеток пролиферировать при их культивировании *in vitro* можно было бы объяснить потерей экспрессии пострепликативных генов, например репрессией *c-myc*, или неспособностью фосфорилироваться белка ретинобластомы (*RB*), или, напротив, увеличением экспрессии антирепликативных генов, например ингибитора циклин-зависимой киназы (*cdk*) *p21*. Было установлено, что находящиеся в фазе репликативного старения фибробласты человека резистентны к апоптозу (Wang, 1995). Угнетение экспрессии ключевых генов G1 фазы, удерживающих стареющие фибробласты человека от вступления в фазу S клеточного цикла, по-видимому, является тем механизмом, который запускает процесс клеточной гибели. Уровень антиапоптотического фактора *bcl2* постоянно высок в таких клетках, при этом не наблюдается протеолиза терминиана от формы 90 kDa до 30 kDa. Таким образом, репрессия генов G1 фазы, увеличение экспрессии гена антиапоптоза *bcl2* и отсутствие протеолиза представляется, по образному выражению E. Wang (1997), крепким «тройным замком», который предотвращает апоптотическую гибель стареющих фибробластов.

Закономерен вопрос, имеют ли отношение эти результаты, полученные в опытах *in vitro*, к реальной ситуации старения *in vivo*, прежде всего к старению кожи человека? Было установлено, что в коже пожилых лиц в большом количестве содержатся стареющие фибробласты (Dimri et al., 1995). Хорошо известна высокая чувствительность кожи пожилых к канцерогенному действию ультрафиолета и сниженная способность к заживлению ран (Anisimov, 1998). Следует заметить, что еще в 1985 г. P. Ebbesen выявил существенное повышение чувствительности старых мышей к действию промотора кожного канцерогенеза 12-О-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетата (ТФА) по сравнению с кожей молодых животных. При подкожном введении старым животным самых разнообразных канцерогенных агентов (полициклических ароматических углеводородов, нитрозосоединений, пластмассовых пленок или вируса Молони) саркомы на месте введения развивались с большей частотой и значительно раньше, чем у молодых (Anisimov, 1987, 1998) (см. главу 11). С другой стороны, стимуляция апоптоза в клетках печени ограничением калорийности питания угнетала развитие пренеопластических узелков в печени у старых крыс и мышей (Grasl-Kraupp et al., 1994; Muskhelishvili et al., 1996).

Таким образом, накопление в тканях с возрастом резистентных к апоптозу стареющих клеток, возможно, является тем айсбергом, который аккумулирует множественные повреждения, приводящие в конечном счете к неоплазии, нейродегенеративным процессам или вторичной смерти вследствие инфаркта миокарда (Anisimov, 1998; Wang, 1997; Green, Evan, 2002; Zhang, Herman, 2002). Подчеркивается, что поскольку молекулярные повреждения, накапливающиеся при старении, обуславливают широкий спектр нарушений выживаемости клеток, они могут проявляться далеко не одинаково в разных органах и тканях. Действительно, в тех тканях, в которых стволовые клетки практически отсутствуют или содержатся в незначительном количестве, например в головном мозге, наблюдается возрастное снижение чувствительности к апоптозу. В органах, сформированных из обратимо дифференцированных клеток, таких как печень и сердце, напротив, сохраняется высокая способность отвечать на апоптотические сигналы, например при окислительном стрессе.

В. Г. Зайнуллин и А. А. Москалев (2001), рассматривая вопрос о возрастной дисрегуляции апоптоза, выделяют три блока: ядерный, митохондриальный и экзогенный (межклеточный). Возрастные изменения экспрессии и активности различных ДНКаз апоптоза, транскрипционного фактора *p53*, а также индуцируемых или репрессируемых им регуляторных белков, которые принимают участие в реализации апоптоза (катепсин, *p21*, IGF ВР-3, Вах и Bcl-2), составляют ядерный механизм, который тесным образом связан с митохондриальным, поскольку осуществляющие его белки (Вах и Bcl-2), а также продукция активных форм кислорода (АФК) контролируются фактором *p53*. Межклеточный механизм включает уменьшение в непосредственном микроокружении клетки факторов гормональной и цитокиновой природы, необходимых для ее выживания, и, напротив, повыше-

ние концентрации лигандов так называемых «рецепторов гибели» (Fas-рецептора, рецептора фактора некроза опухолей TNF-R1, рецепторов  $\beta$ -амилоидного пептида). Очевидно, что межклеточный механизм также связан с ядерным, поскольку индуцируемый p53 связывающий инсулинподобный фактор роста белок IGF BP-3 способен связывать и инактивировать во внеклеточном пространстве цитокины, стимулирующие рост и выживание клетки. Авторы полагают, что апоптоз, наряду с генетической нестабильностью, накоплением ошибок синтеза и клеточно-тканевыми повреждениями, является одним из центральных механизмов старения целостного организма.

При использовании ионизирующего излучения в качестве повреждающего фактора было установлено, что при этом индуцируются не только механизмы нестабильности, но и репарации, антиоксидантной защиты. В результате продолжительность жизни может даже увеличиваться, поскольку при преобладании факторов антистарения система переходит на более высокий уровень защиты от повреждения и становится более устойчивой, чем до воздействия (Зайнуллин, Москалев, 2000, 2001). Проведенные исследования подтверждают участие процессов генетической нестабильности и апоптоза в старении организма. В частности, было установлено, что у линий, характеризующихся отличиями в паттерне мобильных генетических элементов, обнаружена разная реакция на облучение на протяжении пяти поколений: к пятому поколению облучения наблюдается уменьшение продолжительности жизни у линий дикого типа *GB-39* и *Canton-S* по сравнению с контролем, тогда как у линии *Oregon-R* ПЖ возрастает. Обработка индуктором апоптоза этопозидом на предимагинальных стадиях линий с дефектами репарации и апоптоза *mei-41<sup>D5</sup>*, *wg<sup>l-7</sup>*, *wg<sup>7L74</sup>*, *th<sup>1</sup>* и *P1106* (несет дефект каспазы *Dcp-1*) приводит к снижению продолжительности жизни. Авторами впервые обнаружен доминантный эффект гена *mei-41<sup>D5</sup>* в регуляции этопозид-индуцированного изменения продолжительности жизни дрозофилы. Интересно, что у линии *1576*, характеризующейся недостатком активности проапоптозного гена *reaper*, продолжительность жизни после воздействия как ионизирующего облучения, так и индуктора апоптоза этопозидом, достоверно увеличивается по сравнению с контролем. У линии *th<sup>1</sup>*, несущей дефект белка ингибитора апоптоза (*DIAP-1*), было отмечено снижение продолжительности жизни после воздействия. Такой же эффект наблюдали и у линии *P1106*, имеющей сверхэкспрессию гена протеазы апоптоза *dcp-1*.

В другой серии экспериментов В. Г. Зайнуллин и А. А. Москалев (2002а) изучали связь индуцированного апоптоза в нервной системе личинок дрозофилы со старением имаго. Для изучения скорости старения исследуемых линий после воздействия и в контроле оценивали возраст-зависимую динамику нервно-мышечной активности имаго, применив тест на отрицательный геотаксис. Для оценки использовали линии дрозофилы с повышенной чувствительностью к индукции апоптоза и линию дикого типа *Berlin*. Для всех линий во всех вариантах эксперимента наблюдали тенден-

цию к снижению показателя нервно-мышечной активности с возрастом, что еще раз говорит о корреляции данного признака со старением.

Облучение линий с повышенной чувствительностью к индукции апоптоза, несущих мутацию гена *th* (аллели *th*<sup>1</sup> и *th*<sup>4</sup>), и линии дикого типа *Berlin* привело к увеличению нервно-мышечной активности на протяжении всего периода жизни имаго, и, соответственно, к уменьшению скорости старения. У линий с пониженной чувствительностью к апоптозу — с делецией *rpr*, *grim* и *hid*, с нарушением функции проапоптозного гена *dArk*<sup>k11502</sup>, с мутациями гена протеазы апоптоза *Dcp-1* (*Dcp-1*<sup>02132</sup> и *Dcp-1*<sup>k05606</sup>) достоверных изменений нервно-мышечной активности после облучения выявлено не было. Используя принципиально новый подход к изучению роли апоптоза в старении — воздействие на предимагинальные стадии, авторы наблюдали отдаленное влияние индукции апоптоза на скорость старения. Опираясь на вышеизложенные результаты, а также на факт существенного повышения уровня апоптоза в нервной системе личинок после облучения (увеличение уровня апоптоза в 2.5 раза), было выдвинуто следующее предположение. Не исключено, что любая ткань включает разнородные по чувствительности к повреждению клетки. Одни клетки обладают более мощной системой репарации и антиоксидантной защиты, тогда как другие — гораздо более слабой (например, вследствие соматических мутаций соответствующих генов). Вероятно, что клетки с ослабленной защитой будут накапливать повреждения и подвергаться старению с большей скоростью, чем устойчивые. Большое количество таких потенциально опасных клеток в ткани будет определять преждевременное или ускоренное протекание возраст-зависимых дегенеративных и атрофических изменений. Однако в тканях с повышенной чувствительностью к индукции апоптоза (у линий *th*<sup>1</sup> и *th*<sup>4</sup>) воздействие радиации на предимагинальной стадии будет приводить к элиминации клеток с ослабленной защитой, что отсрочит возраст-зависимые изменения у имаго. У линии дикого типа *Berlin* также наблюдалось снижение скорости старения после облучения, однако значительно менее выраженное, чем у линий с повышенной чувствительностью к апоптозу. У четырех исследованных линий со сниженной чувствительностью к индукции апоптоза статистически значимого изменения скорости старения после облучения по сравнению с контролем В. Г. Зайнуллин и А. А. Москалев (2000, 2001a) не наблюдали, то есть можно предположить, что у нечувствительных к апоптозу линий предложенный механизм не функционирует. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что индуцированный на предимагинальных стадиях апоптоз может выступать в роли своеобразного механизма антистарения, элиминирующего потенциально опасные клетки с ослабленной системой репарации или антиоксидантной защиты. В связи с полученными фактами авторы ставят три важных вопроса, требующих углубленного исследования:

1) Наблюдаются ли отмеченные эффекты при облучении в других (меньших или больших) дозах или при воздействии химических индукторов апоптоза?

2) Проявляются ли они в других, не постмитотических, возобновляемых тканях?

3) Возможны ли они у непостмитотических организмов (например, млекопитающих)?

Авторы подчеркивают, что клетки, предрасположенные к накоплению повреждений, могут не только ускоренно стареть, приводя к атрофическим изменениям в тканях, но и малигнизироваться.

Предполагается, что нормальные (гомеостатические) апоптотические процессы могут непосредственно индуцировать старческий фенотип и связанную с возрастом патологию (Campisi, 2003). Как уже упоминалось выше, в норме апоптоз удаляет поврежденные клетки, и этот механизм у млекопитающих является важнейшим для защиты организма от рака. Однако апоптоз может развиваться в постмитотических клетках, например нейронах, поврежденных АФК, некоторыми нейромедиаторами или токсическими агентами. Поврежденные нейроны, удаленные апоптозом в молодом возрасте, могут иметь лишь незначительные последствия или вообще не влиять на молодой организм, синаптическая пластичность которого позволяет нервной системе компенсировать случайную потерю нейронов (Finch, 2002). В старом организме, однако, апоптотическая убыль нейронов может превышать возможности оставшихся нейронов к компенсаторному восстановлению синаптических связей, что в конечном счете лежит в основе нейрональной недостаточности и нейродегенеративных заболеваний.

#### 5.14. ВЗАИМООТНОШЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ И АПОПТОЗА

Старение! В теле все больше смертного.  
То есть не нужного жизни.

*Иосиф Бродский*

Связь между старением и апоптозом хорошо известна. Многочисленными исследованиями установлено, что апоптоз снижается с возрастом как *in vivo*, так и *in vitro* (Monti et al., 2000; Suh, 2002). Резистентностью к апоптозу можно объяснить накопление стареющих клеток в тканях с возрастом. Показано, что ген *Bcl-2* ответственен за устойчивость стареющих фибробластов к апоптозу (Wang et al., 1995) и участвует в преждевременном старении нормальных фибробластов крысы и человека (Rincheval et al., 2002; Tombor et al., 2003).

Выше уже рассматривались основные черты клеточного (репликативно-го) старения клетки. Подобно апоптозу, клеточное старение может быть филогенетически древним механизмом. Оно наблюдается у простейших одноклеточных организмов, таких как дрожжи (Jazwinski, 1998), и в стволовых клетках простых многоклеточных эукариотов, таких как плодовые мухи

*D. melanogaster* (Margolis, Spradling, 1995). Как и апоптоз, клеточное старение является важнейшим механизмом подавления канцерогенеза у комплексных эукариотов (Campisi, 2001, 2003). Так, генетически модифицированные мышцы, содержащие клетки, которые не могут подвергаться нормальному клеточному старению, обычно погибают в молодом возрасте от новообразований (Donehower, 2002) (подробнее см. главу 12).

Однако в противоположность апоптозу при клеточном старении не происходит элиминации дисфункциональных, поврежденных или потенциально неопластических клеток. При клеточном старении наблюдается необратимая остановка пролиферации таких клеток. При этом клеточное старение делает клетки неспособными к опухолевой трансформации, однако такие «старые» клетки персистируют в тканях, способствуя малигнизации пре-неопластических клеток (Campisi, 2001, 2003; Krtolica, Campisi, 2003).

Поскольку старые клетки неспособны к самообновлению, предполагается, что клеточное старение способствует проявлению таких фенотипических черт старения организма, как иммунодефицит, плохое заживление ран, атрофия кожи, снижение функции желудочно-кишечного тракта и т. д., т. е. к развитию процессов, обусловленных снижением способности к пролиферации (Campisi, 2003). Как уже упоминалось выше, клеточное старение в значительной мере обусловлено укорочением теломер при каждом делении клеток, не содержащих теломеразу. Соматические клетки большинства млекопитающих за некоторым исключением не экспрессируют теломеразу, причем существуют видовые различия в степени репрессии теломеразы в соматических клетках (Campisi, 2001). У видов с относительно короткими теломерами и строгой регуляцией экспрессии теломеразы (например, у человека), при делении клетки последовательно укорачивают свои теломеры, которые, к тому же, возможно, имеют те или иные нарушения функции (Shay, Wright, 2001). Дисфункциональные теломеры, которые можно уподобить поврежденной ДНК, запускают необратимую остановку клеточного роста. Установление роли теломер в запуске клеточного старения дало основания для формулировки «теломерной гипотезы старения», которую, как полагает J. Campisi (2001, 2003), более правильно называть непереводимым адекватно на русский язык выражением «cellular senescence hypothesis of aging».

В последние годы стало очевидным, что дисфункция теломер — лишь один из многих факторов, индуцирующих клеточное старение (Campisi, 2001; Serrano, Blasco, 2001) (см. также главу 11). Уже обсуждалась роль окислительного стресса и некоторых онкогенов (например, RAS или RAF), а также супрафизиологических митогенных сигналов, нарушений в организации хроматина в этих процессах. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что старые клетки могут накапливаться не только в быстро обновляющихся тканях. Более того, клеточное старение может иметь место у видов животных, у которых относительно длинные теломеры и нестрого контролируемая экспрессия теломеразы (например, у лабораторных мышей) (Campisi, 2003). Важно подчеркнуть, что, подвергнувшись клеточному старению, клетки становятся резистентными к некоторым апоптотическим сигналам

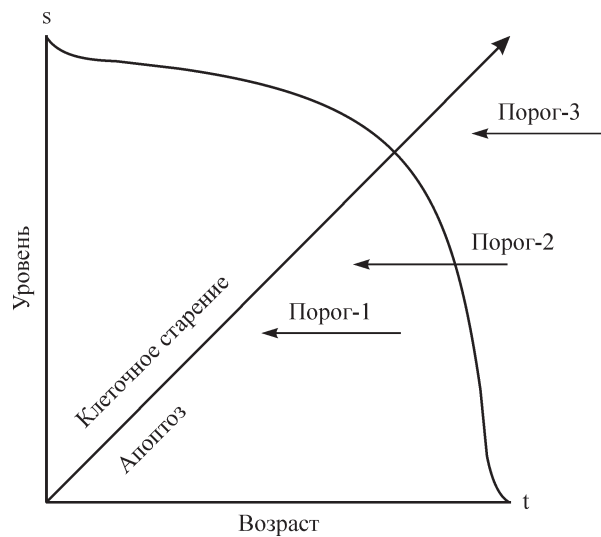


Рис. 5.9. Модель антагонистической плейотропии апоптоза и клеточного старения (Campisi, 2003).

(Seluanov et al., 2001; Marcotte, Wang, 2002). Именно резистентность к апоптозу может объяснить, почему старые клетки могут накапливаться в тканях с возрастом (Dimri et al., 1995; Paradis et al., 2001).

Поскольку старые клетки могут секретировать металлопротеиназы, некоторые ферменты, воспалительные цитокины и ростовые факторы (Campisi, 2001), действующие дистантно, их накопление в тканях может изменять микроокружение, в конечном счете приводящее к развитию ассоциированных с возрастом заболеваний, таких как атеросклероз (Vasile et al., 2001) или рак (Krtolica, Campisi, 2003).

Таким образом, как апоптоз, так и клеточное старение являются важными механизмами подавления опухолевого роста и, по крайней мере теоретически, участвуют в формировании старческого фенотипа и ассоциированных с возрастом заболеваний. J. Campisi (2003) полагает, что оба этих процесса представляют собой пример антагонистической плейотропии (рис. 5.9). Действительно, хотя апоптоз и клеточное старение безусловно полезны для молодого организма, они могут приводить к неблагоприятным для здоровья явлениям в более позднем возрасте, вызывая старение организма. Можно ожидать, что любые системы, регулирующие апоптоз, будут обладать эффектами антагонистической плейотропии. В молодом возрасте апоптоз является противоопухолевым механизмом, тогда как в пожилом возрасте, когда число стволовых клеток становится недостаточным для поддержания клеточных популяций, апоптоз играет существенную роль в развитии недостаточности тканевых функций (Leroi et al., 2005). В случаях, когда в пожилом возрасте интегрированность тканей возрастает благодаря подавлению апоптоза, это приводит к увеличению риска развития рака.



Начиная с периода эмбриогенеза, клеточное старение и апоптоз действуют совместно, хотя их регуляция и надежность могут изменяться с возрастом и варьировать в зависимости от физиологического состояния организма и ткани. В молодом возрасте оба процесса полезны для организма, поскольку элиминируют поврежденные клетки и клетки с нарушенной функцией. Однако по мере накопления повреждений и увеличения возраста увеличивается как апоптотическая клеточная убыль, так и нарушения в тканях, связанные с накоплением в них старых, утративших способность к делению, клеток, достигается некий пороговый уровень, когда утрачивается прежний уровень здоровья тканей. Известно, что ткани могут существенно различаться по степени клеточных потерь или нарушению их функции с возрастом. Предполагается, что неблагоприятные проявления апоптоза и клеточного старения проявляются относительно поздно на протяжении жизни, в период, когда давление естественного отбора ослабевает (Campisi, 2003; Krtolica, Campisi, 2002, 2003). Очевидно, что многие аспекты рассматриваемой проблемы требуют своего уточнения, что безусловно необходимо для выработки рациональной стратегии вмешательства в процесс старения.

### Литература

- Бродский В. Я., Хавинсон В. Х., Золотарев Ю. А. и др. Ритм синтеза белка в культурах гепатоцитов крыс разного возраста. Норма и действие пептида ливагена // Изв. АН. Сер. биол. 2001. № 5. С. 517—521.
- Васильев Ю. М., Гельфанд И. М. Взаимодействие нормальных и неопластических клеток со средой. М.: Наука, 1981. 220 с.
- Голубев А. Г. Естественная история теломер // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 95—104.
- Егоров Е. Е. Теломераза, старение, рак // Мол. биология. 1997. Т. 31. С. 16—24.
- Епифанова О. И., Терских В. В., Полуновский В. А. Покоящиеся клетки. Свойства и функции в организме. М.: Наука, 1983. 176 с.
- Зайнуллин В. Г., Москалев А. А. Изменчивость продолжительности жизни имаго дрозофилы в условиях хронического облучения в малых дозах радиации // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40, № 3. С. 281—284.
- Зайнуллин В. Г., Москалев А. А. Роль генетической нестабильности в старении клетки // Генетика. 2000а. Т. 36, № 8, С. 1013—1016.
- Зайнуллин В. Г., Москалев А. А. Радиоиндуцированное изменение продолжительности жизни лабораторных линий *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2001. Т. 37. С. 1304—1306.
- Зайнуллин В. Г., Москалев А. А. Роль апоптоза в возрастных патологиях // Онтогенез. 2001а. Т. 34. № 4. С. 245—251.
- Оболенская М. Ю. Возрастные особенности синтеза ДНК в регенерирующей печени белых крыс // Цитология. 1976. Т. 18. С. 857—861.
- Оловников А. М. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов // Докл. АН СССР. 1971. Т. 201. С. 1496—1499.
- Оловников А. М. Редумера как недостающее звено в понимании старения человека. Клинич. геронтол. 2005. № 11. С. 50—69.
- Пальцев М. А. Современные подходы к изучению патогенеза болезней // Вестн. РАМН. 1999. № 9. С. 22—25.
- Пальцев М. А., Кветной И. М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2006. 384 с.

- Пожарисский К. М., Първанова Л. Г., Анисимов В. Н., Климашевский В. Ф.* Влияние возраста на канцерогенез в кишечнике // Экспер. онкол. 1980. Т. 2, № 2. С. 20—22.
- Скулачев В. П.* Старение организма — особая биологическая функция, а не результат поломки сложной живой системы: биохимическое обоснование концепции Вейсмана // Биохимия. 1997. Т. 62. С. 1369—1399.
- Смирнова И. О.* Функциональная морфология старения кожи // Успехи геронтол. 2004. Т. 13. С. 44—51.
- Уманский С. Р.* Генетическая программа клеточной гибели: гипотеза и некоторые приложения (трансформация, канцерогенез, старение) // Успехи соврем. биол. 1982. Т. 93. С. 139—148.
- Фаллер Дж. М., Шилдс Д.* Молекулярная биология клетки: Руководство для врачей / Пер. с англ. М.: Изд-во БИНОМ, 2006. 256 с.
- Хансон К. П.* Роль апоптоза в старении и возрастной патологии // Успехи геронтол. 1999. Т. 3. С. 103—110.
- Хохлов А. Н.* Пролиферация и старение. Общие проблемы физико-химической биологии (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). М., 1988. Т. 9. С. 5—174.
- Andersson A. M., Olsen M., Zhernosekov S. et al.* Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study newborn, adult and aged rats // Biochem. J. 1993. Vol. 290. P. 641—648.
- Anisimov V. N.* Age as a risk factor in multistage carcinogenesis // In: Comprehensive Geriatric Oncology / Eds L. Balducci, G. H. Lyman, W. B. Ershler. Amsterdam: Harwood Acad. Publ. 1998. P. 157—178.
- Anisimov V. N.* Carcinogenesis and Aging. Vols. 1 & 2. Boca Raton: CRC Press, 1987. 165 p; 148 p.
- Anisimov V. N., Okulov V. B.* Effect of ageing on concentration of estradiol in serum and the epidermal G<sub>2</sub> chalone in vaginal mucosa of rats // Exp. Gerontol. 1980. Vol. 15. P. 87—91.
- Aranda-Anzaldo A., Dent M. A. R.* Reassessing the role of p53 in cancer and ageing from an evolutionary perspective // Mech. Ageing Dev. 2007. Vol. 128. P. 293—302.
- Argyle D., Ellsmore V., Gault E. A. et al.* Equine telomeres and telomerase in cellular immortalization and ageing // Mech. Ageing Dev. 2003. Vol. 124. P. 759—764.
- Arino O., Kimmel M., Webb G. F.* Mathematical modeling of the loss of telomere sequences // J. Theor. Biol. 1995. Vol. 177. P. 45—57.
- Ashcroft G. S., Horan M. A., Ferguson M. W.* Aging alters the inflammatory and endothelial cell adhesion molecule profiles during human cutaneous wound healing // Lab. Invest. 1998. Vol. 78. P. 47—58.
- Aviv A., Levy D., Mangel M.* Growth, telomere dynamics and successful and unsuccessful human aging // Mech. Ageing Dev. 2003. Vol. 124. P. 829—837.
- Barnes D. W. H., Loutit J. F., Micklem H. S.* «Secondary disease» of radiation chimeras: a syndrome due to lymphoid aplasia // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1962. Vol. 99. P. 374—385.
- Baserga R. L.* Cell division and cell cycle // Handbook of the Biology of Aging / C. E. Finch, L. Hayflick (eds). N. Y.: Van Nostrand Reinhold, 1977. P. 101—121.
- Bekaert S., van Pottelbergh I., De Meyer T. et al.* Telomere length versus hormonal and bone mineral status in healthy elderly men // Mech. Ageing Dev. 2005. Vol. 126. P. 1115—1122.
- Bespalov V. G., Ovsyannikov A. I., Anisimov V. N., Likhachev A. J.* Effect of ageing on carcinogenesis and DNA synthesis in the liver of rat exposed to 1,2-dimethylhydrazine after partial hepatectomy // Pharmacological, Morphological and Physiological Aspects of Liver Aging / Ed. C. Van Bezoojen. Topics in Ageing Research in Europe. Vol. 1. Euroage, Rijswijk, 1984. P. 217—222.
- Bischoff C., Petersen H. C., Graakjaer J. et al.* No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old // Epidemiology. 2006. Vol. 17. P. 190—194.
- Blasco M. A.* Telomerase beyond telomeres // Nature Rev. Cancer. 2002. Vol. 2. P. 1—7.
- Blasco M. A., Lee H. W., Hande M. P. et al.* Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA // Cell. 1997. Vol. 91. P. 25—34.
- Bodnar A. G., Ouellette M., Frolkis M. et al.* Extension of life span by introduction of telomerase into normal human cells // Sciences. 1998. Vol. 279. P. 349—352.

- Boengler K., Heusch G., Shulz R.* Connexin 43 and ischemic preconditioning: effect of age // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 485—488.
- Bringold F., Serrano M.* Tumor suppressors and oncogenes in cellular senescence // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 317—329.
- Brown W. T.* Genetic diseases of premature aging as models of senescence // *Annu. Rev. Gerontol. Geriatr.* 1990. Vol. 10. P. 23—42.
- Bucher N. L. R.* Regeneration of mammalian liver // *Int. Rev. Cytol.* 1963. Vol. 15. P. 245—300.
- Busuttil R. A., Rubio M., Dolle M. E. T. et al.* Oxygen accelerates the accumulation of mutations during the senescence and immortalization of murine cells in culture // *Aging Cell.* 2003. Vol. 2. P. 287—294.
- Calaf G., Martinez F., Russo I.H. et al.* The influence of age on DNA labeling index of human breast epithelium // *IRCS J. Med. Sci.* 1982. Vol. 10. P. 657—658.
- Cameron I. L., Thrasher J. D.* Cell renewal and cell loss in the tissues of aging animals // *Interdisc. Topics Gerontol.* 1976. Vol. 10. P. 108.
- Cameron I. L.* Minimum number of cell doubling in an epithelial cells population during the lifespan of the mouse // *J. Gerontol.* 1972. Vol. 27. P. 157—161.
- Campisi J., Kim S., Lim C. S., Rubio M.* Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection // *Exp Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 1619—1637.
- Campisi J.* Aging, tumor suppression and cancer: high wire-act! // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 51—58.
- Campisi J.* Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 5—11.
- Campisi J.* From cells to organisms: can we learn about aging from cells in culture // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 607—618.
- Carlson M. E., Conboy I. M.* Loss of stem cell regenerative capacity within aged niches // *Aging Cell.* 2007. Vol. 6. P. 371—382.
- Carman T. A., Afshari C. A., Barrett J. C.* Cellular senescence in telomerase-expressing Syrian hamster embryo cells // *Exp. Cell Res.* 1998. Vol. 244. P. 33—42.
- Cherkas L. F., Aviv A., Valdes A. M. et al.* The effects of social status on biological aging as measured by white-blood-cell telomere length // *Aging Cell.* 2006. Vol. 5. P. 361—365.
- Choi J., Shendrick I., Peacocke M. et al.* Expression of senescence-associated beta-galactosidase in enlarged prostates from men with benign prostatic hyperplasia // *Urology.* 2000. Vol. 56. P. 160—166.
- Conboy I. M., Conboy M. J., Wagers A. J. et al.* Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic microenvironment // *Nature.* 2005. Vol. 433. P. 760—764.
- Cristofalo V. I.* SA  $\beta$  Gal staining: biomarker or delusion // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 836—838.
- Cristofalo V. J., Allen R. G., Pignolo R. J. et al.* Relationship between donor age and the replicative lifespan of human cells in culture: a reevaluation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. P. 10614—10619.
- Cristofalo V. J., Lorenzini A., Allen R. G., Torres C., Tresini M.* Replicative senescence: a critical review // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125. P. 827—848.
- Daniel C. W.* Cell longevity *in vivo* // *Handbook of the Biology of Aging* / Finch C. E., Hayflick L. (eds). N. Y.: Van Nostrand Reinhold. 1977. P. 122—158.
- Davis T., Kipling D.* Telomeres and telomerase biology in vertebrates: progress towards a non-human model for replicative senescence and ageing // *Biogerontology.* 2005. Vol. 6. P. 371—385.
- Davis T., Skinner J.W., Faragher R.G.A. et al.* Replicative senescence in sheep fibroblasts is a p53-dependent process // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 17—26.
- De Magalhaes J. P.* Open-minded scepticism: inferring the causal mechanisms of human ageing from genetic perturbations // *Ageing Res. Rev.* 2005. Vol. 5. P. 1—22.
- De Magalhaes J. P., Chainiaux F., Remacle J., Toussaint O.* Stress-induced premature senescence in BJ and hTERT-BJ-1 human foreskin fibroblasts // *FEBS Lett.* 2002. Vol. 523. P. 157—162.

- Delany M. E., Daniels L. M., Swanberg S. E., Taylor H. A.* Telomeres in the chicken: genome stability and chromosome ends // *Poul. Sci.* 2003. Vol. 82. P. 917—926.
- Dimri G. P., Lee X., Basile G. et al.* A novel biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92. P. 9263—9367.
- Ding G., Franki N., Kapasi A.A. et al.* Tubular cell senescence and expression of TGF-beta1 and p21(WAF1/CIP1) in tubulointerstitial fibrosis of aging rats // *Exp. Mol. Pathol.* 2001. Vol. 70. P. 43—53.
- Donehower L. A.* Does p53 affect organismal aging? // *J. Cell. Physiol.* 2002. Vol. 192. P. 23—33.
- Ebbesen P.* Reticulosarcoma and amyloid development in BALB/c mice inoculated with syngenic cells from young and old donors // *J. Natl. Cancer. Inst.* 1971. Vol. 47. P. 1241—1245.
- Egan C. A., Savre-Train I., Shay J. W. et al.* Analysis of telomere lengths in human corneal endothelial cells from donors of different ages // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1998. Vol. 39. P. 648—653.
- Epel E. S., Blackburn E. H., Lin J. et al.* Accelerated telomere shortening in response to life stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101. P. 17312—17315.
- Erpel T., Courtneidge S. A.* Src family protein tyrosine kinases and cellular signal transduction pathway // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 7. P. 176—182.
- Erusalimsky J. D., Kurz D. J.* Cellular senescence *in vivo*: Its relevance in ageing and cardiovascular disease // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 634—642.
- Evan G., Littlewood T.* A matter of life and cell death // *Science.* 1998. Vol. 281. P. 1317—1322.
- Fabrikant J. I.* Size of proliferating pools in regenerating liver // *Exp. Cell. Res.* 1969. Vol. 55. P. 277—279.
- Finch C. E.* Neurons, glia, and plasticity in normal brain aging // *Успехи геронтол.* 2002. T. 10. C. 35—39.
- Forsyth N. R., Elder F. F. B., Shay J. W., Wright W. E.* Lagomorphs (rabbits, pikas and hares) do not use telomere-directed replicative aging *in vitro* // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 685—691.
- Friedenstein A. J., Chailakhjan R. K., Lalykina K. S.* The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells // *Cell Tissue Kinet.* 1970. Vol. 3. P. 393—403.
- Friedenstein A. J., Latzinik N. V., Gorskaya Yu. F. et al.* Bone marrow stromal colony formation requires stimulation by haemopoietic cells // *Bone Miner.* 1992. Vol. 18. P. 199—213.
- Frith C. H., Wiley L. D.* Morphologic classification and correlation of incidence of hyperplastic and neoplastic hematopoietic lesions in mice with age // *J. Gerontol.* 1981. Vol. 36. P. 534—545.
- Gallimore P. H., Lecarne P. S., Roberts S. et al.* Adenovirus type 12 early region 1B 54K protein significantly extends the life span of normal mammalian cells in culture // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. P. 6629—6640.
- Gao J., Dennis J. E., Muzic R. F. et al.* The dynamic *in vivo* distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion // *Cells Tissues Organs.* 2001. Vol. 169. P. 12—20.
- Gelfant S.* Cycling  $\rightleftharpoons$  noncycling cell transitions in tissue aging, immunological surveillance, transformation and tumor growth // *Int. Rev. Cytol.* 1981. Vol. 70. P. 1—25.
- Goodwin E. C., DiMaio D.* Induced senescence in HeLa cervical carcinoma cells containing elevated telomerase activity and extended telomeres // *Cell Growth Differ.* 2001. Vol. 12. P. 525—534.
- Goomer R. S., Maris S., Amiel D.* Age-related changes in the expression of cadherin-11, the mesenchyme specific calcium-dependent cell adhesion molecule // *Calcif. Tissue Int.*, 1998. Vol. 62. P. 532—537.
- Gorbunova V., Seluyanov A., Pereira-Smith O. M.* Expression of human telomerase (hTERT) does not prevent stress-induced senescence in normal human fibroblasts but protects the cells from stress-induced apoptosis and necrosis // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 38540—38549.
- Grasl-Kraupp B., Bursh W., Ruttka-Nedecky B. et al.* Food restriction eliminates preneoplastic cells through apoptosis and antagonizes carcinogenesis in rat liver // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91. P. 9995—9999.

- Green D. R., Evan G. I.* A matter of life and death // *Cancer Cell*. 2002. Vol. 1. P. 19—30.
- Greider C. W., Blackburn E. H.* Identification of a specific telomere terminal transferase enzyme with two kinds of primer specificity // *Cell*. 1985. Vol. 51. P. 405—413.
- Habermann H., Chang W. Y., Birch L. et al.* Developmental exposure to estrogens alters epithelial cell adhesion and gap junction proteins in the adult rat prostate // *Endocrinology*. 2001. Vol. 142. P. 359—369.
- Harley C.B.* Telomerase is not an oncogene // *Oncogene*. 2002. Vol. 21. P. 494—502.
- Harrison D. E.* Normal production of erythrocytes by mouse marrow continuous for 73 months // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1973. Vol. 70. P. 3184—3188.
- Harrison D. E., Astle C. M., Delaittre J. A.* Lost of proliferative capacity in immunohemopoietic stem cells caused by serial transplantation rather than ageing // *J. Exp. Med.* 1978. Vol. 147. P. 1526—1531.
- Hayflick L.* How and why we age // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 639—653.
- Hayflick L., Moorhead P. S.* The serial cultivation of human diploid cell strains // *Exp. Cell Res.* 1961. Vol. 25. P. 585—621.
- Hemann M. T., Greider C. W.* Wild-derived inbred mouse strains have short telomeres // *Nucleic Acid Res.* 2000. Vol. 28. P. 4474—4478.
- Herbig U., Ferreira M., Condel L. et al.* Cellular senescence in aging primates // *Science*. 2006. Vol. 311. P. 1257.
- Hornsby P. J.* Cellular senescence and tissue aging in vivo // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2002. Vol. 57A. P. B251—B256.
- Hornsby P. J.* Telomerase and the aging process // *Exp. Gerontol.* 2007. Vol. 42. P. 575—581.
- Horton D. L.* The effect of age on hair growth in the CBA mouse: observations on transplanted skin // *J. Gerontol.* 1967. Vol. 22. P. 43—45.
- Ip C.* Ability of dietary fat to overcome the resistance of mature female rats to 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumorigenesis // *Cancer Res.* 1980. Vol. 40. P. 2785—2789.
- Jazwinski S. M.* Genetics of longevity // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 773—783.
- Jeyapalan J. C., Ferreira M., Sedivy J. M., Herbig U.* Accumulation of senescent cells in mitotic tissue of aging primates // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 36—44.
- Jiang X. R., Jimenez G., Chang E. et al.* Telomerase expression in human somatic cells does not induce changes associated with a transformed phenotype // *Nature Genet.* 1999. Vol. 21. P. 111—114.
- Joeng K. S., Song E. J., Lee K. J., Lee J.* Long lifespan in worms with long telomere DNA // *Nature Genetics*. 2004. Vol. 36. P. 604—611.
- Jones S. A., Lancaster M. K., Boyett M. R.* Ageing-related changes of connexins and conduction within the sinoatrial node // *J. Physiol.* 2004. Vol. 560, Pt 2. P. 429—437.
- Jung K. Y., Dean D., Jiang J. et al.* Loss of N-cadherin and alpha-catenin in the proximal tubules of aging male Fischer 344 rats // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125. P. 445—453.
- Kang M. K., Kameta A., Baluda M., Park N.-H.* Telomere shortening does not occur during postmaturational aging in situ in normal human oral fibroblasts // *Mech. Ageing Dev.* 2003. Vol. 124. P. 873—876.
- Kania G., Corbeil D., Fuchs J. et al.* Somatic stem cell marker prominin-1/CD133 is expressed in embryonic stem cell-derived progenitors // *Stem Cells*. 2005. Vol. 23. P. 791—804.
- Kiyono T., Foster S. A., Koop J. I. et al.* Both Rb/p16 (INK4a) inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells // *Nature*. 1998. Vol. 396. P. 84—88.
- Klein-Szanto A. J., Slaga T. J.* Numerical variation of dark cells in normal and chemically induced hyperplastic epidermis with age of animal and efficiency of tumor promoter // *Cancer Res.* 1981. Vol. 41. P. 4437—4440.
- Krohn P. L.* Review lectures on senescence. II. Heterochronic transplantation in the study of aging // *Proc. R. Soc. (London) Ser. B*. 1962. Vol. 157. P. 128—147.
- Krtolica A., Campisi J.* Cancer and aging: a model for the cancer promoting effects of the aging stroma // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2002. Vol. 34. P. 1401—1414.
- Krtolica A., Campisi J.* Integrating epithelial cancer, aging stroma and cellular senescence // *Успехи геронтол.* 2003. Т. 11. С. 109—116.

- Krtolica A., Parinello S., Lockett S. et al.* Senescent fibroblasts promote epithelial cell growth and tumorigenesis: a link between cancer and aging // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98. P. 12072—12077.
- Lajtha L. G., Schofield R.* Regulation of stem cell renewal and differentiation: possible significance in aging // *Adv. Gerontol. Res.* 1971. Vol. 3. P. 131—146.
- Leblond C. P.* Classification of cell populations on the basis of their proliferative behavior // *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 1964. Vol. 14. P. 119—145.
- Lee H.-W., Biasco M. A., Gottlieb G. J. et al.* Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs // *Nature*. 1998. Vol. 392. P. 569—574.
- Lener T., Moll P. R., Rinnerthaler M. et al.* Expression profiling of aging in the human skin // *Exp. Gerontol.* 2006. Vol. 41. P. 387—397.
- Leroi A. M., Bartke A., De Benedictis G. et al.* What evidence is for the existence of individual genes with antagonistic pleiotropic effects ? // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 421—429.
- Leshner S.* Chronic irradiation and aging in mice and rats // *Radiation and Aging* / P. J. Lindop, G. A. Sacher (eds). London: Taylor & Francis. 1966. P. 183—206.
- Leshner S., Sacher G. A.* Effects of age on cell proliferation in mouse duodenal crypts // *Exp. Gerontol.* 1968. Vol. 3. P. 211—217.
- Liang L., Chinnathambi S., Stern M. et al.* As epidermal stem cells age they do not substantially change their characteristics // *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2004. Vol. 9. P. 229—237.
- Likhachev A. J., Ohshima H., Anisimov V. N. et al.* Carcinogenesis and aging. II. Modifying effect of aging on metabolism of methyl(acetoxymethyl)nitrosamine and its interaction with DNA of various tissues in rats // *Carcinogenesis*. 1983. Vol. 4. P. 967—973.
- Liu L., DiGirolamo C. M., Navarro P. A. et al.* Telomerase deficiency impairs differentiation of mesenchymal stem cells // *Exp. Cell Res.* 2004. Vol. 294. P. 1—8.
- Lokshin R. A., Zakeri Z. F.* Programmed cell death: new thoughts and relevance to aging // *J. Gerontol.* 1990. Vol. 45. P. B135—B140.
- Lorenzini A., Tresini M., Austad S. N., Cristofalo V. J.* Cellular replicative capacity correlated primarily with species body mass not longevity // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 1130—1133.
- Macieira-Coelho A.* The decline of the clinical incidence of cancers during human senescence // *Gerontology*. 2003. Vol. 49. P. 341—349.
- Manning E. L., Crossland J., Dewey M. J., Van Zant G.* Influences of inbreeding and genetics on telomere length in mice // *Mamm. Genome*. 2002. Vol. 13. P. 234—238.
- Marcotte R., Wang E.* Replicative senescence revisited // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2002. Vol. 57A. P. B257—B269.
- Margolis J., Spradling A.* Identification and behavior of epithelial stem cells in the *Drosophila* ovary // *Development*. 1995. Vol. 121. P. 3797—3807.
- Martin G. M.* Cellular aging — postreplicative cells. A review (Part II) // *Am. J. Pathol.* 1977. Vol. 89. P. 513—530.
- Martin G. M.* Proliferative homeostasis and its age-related aberrations // *Mech. Ageing Dev.* 1979. Vol. 9. P. 385—391.
- Martin G. M.* Clonal attenuation of somatic cells in aging mammals: a review of supportive evidence and its biomedical significance // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007. Vol. 1119. P. 1—8.
- Mathon N. F., Malcolm D. S., Harrisingh M. C. et al.* Lack of replicative senescence in normal rodent glia // *Science*. 2001. Vol. 291. P. 872—875.
- McCullough K. D., Coleman W. B., Smith G. J., Grisham J. W.* Age-dependent regulation of the tumorigenic potential of neoplastically transformed rat liver epithelial cells by the liver micro-environment // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. P. 3668—3671.
- Medvedev Z. A.* Possible role of repeated nucleotide sequences in DNA in the evolution of life spans of different cells // *Nature*. 1972. Vol. 237. P. 453—454.
- Melk A., Kittikowit W., Sandhu I. et al.* Cell senescence in rat kidneys *in vivo* increases with growth and age despite lack of telomere shortening // *Kidney Int.* 2003. Vol. 63. P. 2134—2143.
- Merat S., Fruibis J., Sutphin M. et al.* Effect of aging on aortic expression of the vascular cell adhesion molecule-1 and atherosclerosis in murine model of atherosclerosis // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2000. Vol. 55. P. B85—B94.

- Mikhelson V. M.* Replicative mosaicism might explain the seeming contradictions in the telomere theory of aging. // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1361—1365.
- Miller R. A.* Gerontology as oncology // *Cancer.* 1991. Vol. 68. P. 2496—2501.
- Mishima K., Handa J. T., Aotaki-Keen A. et al.* Senescence-associated beta-galactosidase histochemistry for the primate eye // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1999. Vol. 40. P. 1590—1593.
- Mitchison J. M.* *The Biology of the Cell Cycle.* Cambridge: Cambridge University Press, 1971. 313 p.
- Monti D., Salvoli S., Capri M. et al.* Decreased susceptibility to oxidative stress-induced apoptosis of peripheral blood mononuclear cells from healthy elderly and centenarians // *Mech. Ageing Dev.* 2000. Vol. 121. P. 239—250.
- Morales C. P., Holet S. E., Ouellette M. et al.* Absence of cancer-associated changes in human fibroblasts immortalized with telomerase // *Nat. Genetics.* 1999. Vol. 21. P. 115—117.
- Muskhelishvili L., Turturro A., Hart R. W., James S. J.* Pi-class glutathione-S-transferase-positive hepatocytes in aging B6C3F1 mice undergo apoptosis induced by dietary restriction // *Am. J. Pathol.* 1996. Vol. 149. P. 1585—1591.
- Nasir L., Devlin P., McKeivitt T. et al.* Telomere lengths and telomerase activity in dog tissues: a potential model system to study human telomere and telomerase biology // *Neoplasia.* 2001. Vol. 3. P. 351—359.
- Niida H., Matsumoto T., Satoh H. et al.* Severe growth defect in mouse cells lacking the telomerase RNA component // *Nat. Genet.* 1998. Vol. 19. P. 203—206.
- Ogawa K., Onoe T., Takeuchi M.* Spontaneous occurrence of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase-positive hepatocytic foci in 105-week-old Wistar and 72-week old Fisher 344 rats // *J. Natl. Cancer Inst.* 1981. Vol. 67. P. 407—412.
- Olovnikov A.M.* Telomeres, telomerase and aging: Origin of the theory // *Exp. Gerontol.* 1996. Vol. 31. P. 443—448.
- Paradis V., Youssef N., Dargere D. et al.* Replicative senescence in normal liver, chronic hepatitis C, and hepatocellular carcinomas // *Human Pathol.* 2001. Vol. 32. P. 327—332.
- Parrinello S., Samper K., Krtoch A. et al.* Oxygen sensitivity severely limits the replicative life span of murine fibroblasts // *Nat. Cell Biol.* 2003. Vol. 5. P. 741—747.
- Pasciu D., Montisci S., Greco M. et al.* Aging is associated with increased clonogenic potential in rat liver in vivo // *Aging Cell.* 2006. Vol. 5. P. 373—377.
- Passos J. F., von Zglinicki T.* Mitochondria, telomeres and cell senescence // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 466—472.
- Patil C., Mian I. S., Campisi J.* The thorny path linking cellular senescence to organismal aging // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 1040—1045.
- Pendergrass W. R., Lane M. A., Bodkin N. L. et al.* Cellular proliferation during aging and caloric restriction in rhesus monkey (*Macaca mulatta*) // *J. Cell. Physiol.* 1999. Vol. 180. P. 123—130.
- Potten C. S., Morris R. J.* Epithelial cells in vivo // *J. Cell Sci. Suppl.* 1988. Vol. 10. P. 45—62.
- Potten M., Loeffler M.* Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt // *Development.* 1990. Vol. 110. P. 1001—1020.
- Purnell D. M., Stower D. J.* Mammary gland hyperplastic alveolar noduligenesis in the LEW/Mai rat in relation to mitotic activity, estrous cycle status, and age // *J. Natl. Cancer Inst.* 1978. Vol. 61. P. 1339—1346.
- Rando T. A.* Prognostic value of telomere length : the long and short of it // *Ann. Neurol.* 2006. Vol. 60. P. 155—157.
- Rauscher F. M., Goldschmidt-Clermont P. J., Davis B. H. et al.* Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis // *Circulation.* 2003. Vol. 108. P. 457—463.
- Rincheval V., Renaud F., Lemarie C. et al.* Bcl-2 can promote p53-dependent senescence versus apoptosis without affecting G1/S transition // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. Vol. 298. P. 282—288.
- Robbins E., Levine E. M., Eagle H.* Morphologic changes accompanying senescence of cultured human diploid cells // *J. Exp. Med.* 1970. Vol. 131. P. 1211—1222.
- Rohme D.* Evidence for a relationship between longevity of mammalian species and life spans of normal fibroblasts in vitro and erythrocytes in vivo // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1981. Vol. 78. P. 5009—5013.

- Rombouts W. J., Ploemacher R. E.* Primary murine MSC show highly efficient homing to the bone marrow but lose homing ability following culture // *Leukemia*. 2003. Vol. 17. P. 160—170.
- Rossi D. J., Bryder D., Weissman I. L.* Hematopoietic stem cell aging: mechanism and consequence // *Exp. Gerontol*. 2007. Vol. 42. P. 385—390.
- Rossi D. J., Bryder D., Zahn J. M. et al.* Cell intrinsic alterations underline hematopoietic stem cell aging // *Proc Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. Vol. 102. P. 9194—9199.
- Rubin H.* Cell aging in vivo and in vitro // *Mech. Ageing Dev*. 1997. Vol. 98. P. 1—35.
- Rubin H.* The disparity between human cell senescence in vitro and lifelong replication in vivo // *Nature Biotechnol*. 2002. Vol. 20. P. 675—681.
- Rudolph K. L., Chang S., Lee H. W. et al.* Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice // *Cell*. 1999. Vol. 96. P. 701—712.
- Russo J., Russo I. H.* DNA labeling index and structure of the rat mammary gland as determinants of its susceptibility to carcinogenesis // *J. Natl. Cancer Inst*. 1978. Vol. 61. P. 1451—1459.
- Russo J., Russo I. H.* Influence of differentiation and cell kinetics on the susceptibility of the rat mammary gland to carcinogenesis // *Cancer Res*. 1980. Vol. 40. P. 2677—2682.
- Russo J., Balogh G. A., Chen J. et al.* The concept of stem cell in the mammary gland and its implication in morphogenesis, cancer and prevention // *Front. Biosci*. 2006. Vol. 11. P. 151—172.
- Saretzki G., von Zglinicki T.* Replicative aging, telomere, and oxidative stress // *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2002. Vol. 959. P. 24—29.
- Schmitt C. A.* Senescence, apoptosis and therapy — cutting the lifelines of cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2003. Vol. 3. P. 286—295.
- Scorrano L., Oakes S. A., Opferman J. T. et al.* BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ : a control point for apoptosis // *Science*. 2003. Vol. 300. P. 135—139.
- Seluanov A., Gorbunova V., Falcovitz A. et al.* Change of the death pathway in senescent human fibroblasts in response to DNA damage is caused by an inability to stabilize p53 // *Mol. Cell Biol*. 2001. Vol. 21. P. 1552—1564.
- Seluanov A., Chen Z., Hine C et al.* Telomerase activity coevolves with body mass not lifespan // *Aging Cell*. 2007. Vol. 6. P. 45—52.
- Serrano M., Blasco M. A.* Putting the stress on senescence // *Curr. Opin. Cell Biol*. 2001. Vol. 13. P. 748—753.
- Sethe S., Scutt A., Stolzing A.* Aging of mesenchymal stem cell // *Ageing Res. Rev*. 2006. Vol. 5. P. 91—116.
- Severino J., Allen R. G., Balin S. et al.* Is beta-galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo? // *Exp. Cell Res*. 2000. Vol. 257. P. 162—171.
- Shay J. W., Pereira-Smith O. M., Wright W. R.* A role of both Rb and p53 in the regulation of human cellular senescence // *Exp. Cell Res*. 1991. Vol. 196. P. 33—39.
- Shay J. W., Wright W. E.* Telomere and telomerase: implications for cancer and aging // *Radiat. Rees*. 2001. Vol. 155. P. 188—193.
- Simnett J. D., Hepplestone A. G.* Cell renewal in the mouse lung. The influence of sex, strain, and age // *Lab. Invest*. 1996. Vol. 15. P. 1793—1801.
- Skulachev V. P.* Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms // *Mol. Aspects Med*. 1999. Vol. 20. P. 139—184.
- Skulachev V. P.* Programmed death phenomena: from organelle to organism // *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2002. Vol. 959. P. 214—237.
- Skulachev V. P.* The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology // *Exp. Gerontol*. 2001. Vol. 36. P. 995—1024.
- Smith J. R., Pereira-Smith O. M.* Replicative senescence: implications for in vivo aging and tumor suppression // *Science*. 1996. Vol. 273. P. 63—67.
- Soti C., Sreedhar A. S., Csermely P.* Apoptosis, necrosis and cellular senescence: chaperone occupancy as a potential switch // *Aging Cell*. 2003. Vol. 2. P. 39—45.
- Stamatas G. N., Estanislao R. B., Suero M. et al.* Facial skin fluorescence as a marker of skin's response to chronic environmental insults and its dependence on age // *Br. J. Dermatol*. 2006. Vol. 154. P. 125—132.
- Stanley J. F., Pye D., MacGregor A.* Comparison of doubling numbers attained by cultured animal cells with life span of species // *Nature*. 1975. Vol. 255. P. 158—159.



- Statuto M., Bianchi C., Perego R., Del Monte U.* Drop of connexin 43 in replicative senescence of human fibroblasts HEL-299 as a possible biomarker of senescence // *Exp. Gerontol.* 2002. Vol. 37. P. 1113—1120.
- Stenderup K., Justesen J., Clausen C., Kassem M.* Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells // *Bone.* 2003. Vol. 33. P. 919—926.
- Steinert S., White D. M., Zou Y. et al.* Telomere biology and cellular aging in nonhuman primate cells // *Exp. Cell Res.* 2002. Vol. 272. P. 146—152.
- Suh Y.* Cell signaling in aging and apoptosis // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 881—890.
- Swanberg S. E., Delany M. E.* Dynamics of telomere erosion in transformed and non-transformed avian cells in vitro // *Cytogenet. Genome Res.* 2003. Vol. 102. P. 318—325.
- Takubo K., Izumiya-Shimomura N., Honma N. et al.* Telomere length are characteristic in each human individual // *Exp. Gerontol.* 2002. Vol. 37. P. 523—531.
- Tang D. G., Tokumoto Y. M., Apperly J. A. et al.* Lack of replicative senescence in cultured rat oligodendrocyte precursor cell // *Science.* 2001. Vol. 291. P. 868—871.
- Tauchi H., Sato T., Watanabe T.* Japanese Centenarians: Medical Research for the Final Stages of Human Aging. Aichi, Japan: Aichi Medical University, 1999. 200 p.
- Tombor B., Rundell K., Oltvari Z. N.* Bcl-2 promotes premature senescence induced by oncogenic Ras // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 303. P. 800—807.
- Torella D., Rota M., Nurzynska D. et al.* Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression // *Circ. Res.* 2004. Vol. 94. P. 514—524.
- Troen B. R.* The biology of aging // *The Mount Sinai J. Med.* 2003. Vol. 70. P. 3—22.
- Tsujiuchi T., Tsutsumi M., Kido A. et al.* Induction of telomerase activity during regeneration after partial hepatectomy in the rat // *Cancer Lett.* 1998. Vol. 122. P. 115—120.
- Thuringer J., Katzberg A.* The effect of age on mitosis in the human epidermis // *J. Invest. Dermatol.* 1959. Vol. 33. P. 35—39.
- Van Veen T., Stein M., Royer A. et al.* Impaired impulse propagation in Scn5a-knockout mice: combined contribution of excitability, connexin expression, and tissue architecture in relation to aging // *Circulation.* 2005. Vol. 112. P. 1927—1935.
- Van Waarde-Verhagen M. A. W. H., Kampinga H. H., Linskens M. H. K.* Continuous growth of telomerase-immortal fibroblasts: how long do cells remain normal? // *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127. P. 85—87.
- Vasile E., Tomita Y., Brown L.F. et al.* Differential expression of thymosin beta-10 by early passage and senescent vascular endothelium is modulated by VPF/VEGF: evidence for senescent endothelial cells in vivo at sites of atherosclerosis // *FASEB J.* 2001. Vol. 15. P. 458—466.
- Von Zglinicki T.* Oxidative stress shortens telomeres // *Trends Biochem. Sci.* 2002. Vol. 27. P. 339—344.
- Von Zglinicki T., Pilger R., Sittler N.* Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. Vol. 28. P. 64—74.
- Wagner M., Hampel B., Bernhard D. et al.* Replicative senescence of human endothelial cells in vitro involves G1 arrest, polyploidization and senescence-associated apoptosis // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 1327—1347.
- Wagner M. C., Beck K. D., Reck G.* Neural cell adhesion molecule (NCAM) and N-cadherin mRNA during development and aging: selective reduction in the 7.4-kb and 6.7-kb NCAM mRNA levels in the hippocampus of adult and old rats // *Mech. Ageing Dev.* 1992. Vol. 62. P. 201—208.
- Wang E.* Failure to undergo programmed cell death in senescent human fibroblasts is related to inability to downregulate bcl2 presence // *Cancer Res.* 1995. Vol. 55. P. 2284—2292.
- Wang E.* Regulation of apoptosis resistance and ontogeny of age-dependent diseases // *Exp. Gerontol.* 1997. Vol. 32. P. 471—484.
- Wang J., Hannon G. J., Beach D. H.* Risky immortalization by telomerase // *Nature.* 2000. Vol. 405. P. 755—756.
- Wang Z.-Q., Auer B., Stingl L. et al.* Mice lacking ADPRT and poly (ADP-ribosyl) ation develop normally but are susceptible to skin disease // *Genes Dev.* 1995. Vol. 9. P. 509—520.

- Warner H. R. Aging and regulation of apoptosis // *Curr. Top. Cell. Regul.* 1997. Vol. 35. P. 107—121.
- Wei W., Sedivy J. M. Differentiation between senescence (M1) and crisis (M2) in human fibroblast cultures // *Exp. Cell Res.* 1999. Vol. 253. P. 519—522.
- Weng N., Palmer L. D., Levine B. L. *et al.* Tales of tails: regulation of telomere length and telomerase activity during lymphocyte development, differentiation, activation, and aging // *Immunol. Reviews.* 1997. Vol. 160. P. 43—54.
- Wennmalm K., Wahlestedt C., Larsson O. The expression signature of in vitro senescence resembles mouse but not human aging // *Genome Biol.* 2005. Vol. 6. P. R109.
- Wright W. E., Shay J. W. Telomere dynamics in cancer progression and prevention: fundamental differences in human and mouse telomere biology // *Nat. Medicine.* 2000. Vol. 6. P. 849—851.
- Wright W. E., Shay J. W. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2001. Vol. 11. P. 98—103.
- Wynford-Thomas D. Cellular senescence and cancer // *J. Pathol.* 1999. Vol. 187. P. 100—111.
- Xiao Z. Q., Moragoda L., Jaszewski R. *et al.* Aging is associated with increased proliferation and decreased apoptosis in the colonic mucosa // *Mech Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1849—1864.
- Xie H. Q., Hu V. W. Modulation of gap junctions in senescent endothelial cells // *Exp. Cell Res.* 1994. Vol. 214. P. 172—176.
- Yegorov Y. E., Akimov S. S., Hass R. *et al.* Endogenous  $\beta$ -galactosidase activity in continuously nonproliferating cells // *Exp. Cell Res.* 1998. Vol. 243. P. 207—211.
- Yeh H. I., Chang H. M., Lu W. W. *et al.* Age-related alteration of gap junction distribution and connexin expression in rats aortic endothelium // *J. Histochem. Cytochem.* 2000. Vol. 48. P. 1377—1389.
- Zhang Y., Herman B. Ageing and apoptosis // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 245—260.
- Zhang Y., Padalecki S. S., Chaudhuri A. R. *et al.* Caspase-2 deficiency enhances aging-related traits in mice // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 213—221.
- Zijlmans J. M., Martens U. M., Poon S. S. *et al.* Telomeres in the mouse have large inter-chromosomal variations in the number of T2AG3 repeats // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. P. 7423—7428.

*Часть III*

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ**



## Глава 6

# ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНОЙ И НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМ

Может быть, это точка безумия,  
Может быть, это совесть твоя —  
Узел жизни, в котором мы узнаны  
И развязаны для бытия.

*Осип Манделштам*

### 6.1. ВВЕДЕНИЕ

В последние годы произошли революционные изменения в традиционных представлениях о механизмах поддержания гомеостаза в организме животных и человека. Как отмечают М. А. Пальцев и И. М. Кветной (2006), выявление общего молекулярного «языка» для обмена сигнальной информацией между клетками, тканями и органами привело к стиранию привычных структурно-функциональных границ между тремя классическими регуляторными системами организма — нервной, эндокринной и иммунной. Получены убедительные доказательства синтеза в различных клетках всех этих систем и последующего использования ими в качестве медиаторов идентичных сигнальных молекул — биогенных аминов, пептидных гормонов, производных полиненасыщенных жирных кислот, факторов роста и ряда других веществ. Открытие в конце 60-х годов прошлого века особой специализированной и высокоорганизованной диффузной клеточной системы, названной по способности ее клеток поглощать предшественники моноаминов и декарбоксилировать с последующим образованием биогенных аминов, APUD-системой (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) (Pearse, 1979) и, затем, идентификация продукции одних и тех же биогенных аминов и пептидных гормонов в клетках эндокринных желез и в нейронах позволили уже в самые последние годы объединить нейроны, клетки APUD-системы и иммунокомпетентные клетки, продуцирующие общие сигнальные молекулы, в единую функциональную систему — «диффузную нейроиммуноэндокринную систему — ДНИЭС» (Кветной, Южаков, 2001; Пальцев, Кветной, 2006), что фактически означает формирование новой области медицины — нейроиммуноэндокринологии, предметом которой являются главным образом функциональные взаимосвязи между указанными тремя гомеостатическими системами (Пальцев, Кветной, 2006).

В этой и трех последующих главах мы кратко рассмотрим основные изменения, которые развиваются с возрастом в различных компартментах ДНИЭС, и их роль в механизмах старения.

## 6.2. СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Мозг животных и человека, и нервная система в целом, играют ключевую роль в старении высших организмов и могут с возрастом подвергаться прогрессирующим изменениям, прежде всего износу, на всех уровнях организации — структурно, биохимически и функционально (Finch, 2002).

Наряду с изменениями на макроуровне — некоторым снижением веса мозга, причем как серого, так и белого вещества — наиболее характерным возрастным изменением является значительная утрата количества нейронов в отдельных областях мозга, особенно в базальных ганглиях, мозжечке, locus ceruleus, базальном ядре Мейнерта и спинном мозге. Потеря нейронов, связанная с увеличением количества клеток глии, относительно умеренно выраженная при физиологическом старении, приобретает значительную степень при таких нейродегенеративных заболеваниях, как болезнь Альцгеймера, болезни Паркинсона и раннем старении при болезни Дауна.

Кроме уменьшения количества нейронов, стареющий мозг характеризуется снижением количества дендритов и отростков дендритов. В отдельных участках мозга уменьшается плотность синапсов, сопровождающаяся увеличением размеров сохранившихся синапсов. Внутриклеточные изменения включают дилатацию и фрагментацию аппарата Гольджи, нарушения формы мембран и ядер, накопление липофусцина как в нейронах, так и в клетках глии. С возрастом наблюдается различной степени увеличение размеров нейрофибрилярных сплетений, накопление невритических бляшек с отложениями амилоида и реактивных клеток глии и микроглии. Современные методы нейростереологической морфометрии позволили установить, что в неокортексе человека с 20 до 90 лет происходит снижение числа нейронов лишь на 10 %, причем число глиальных клеток изменяется статистически незначительно (Pakkenberg et al., 2003). Подчеркивается, что возрастные структурные изменения в головном мозге затрагивают только небольшую часть нейронов в его отдельных участках, причем степень их выраженности зависит и от типа нейронов (Rutten et al., 2003). Изменения в периферической и автономной нервных системах при старении проявляются снижением количества чувствительных и двигательных нейронов, усилением демиелинизации, увеличением фиброзирования и умеренной утратой миелинизированных волокон.

В мозге при старении накапливаются амилоидные тельца, аргирофильные зерна, нейромеланин и липофусцин. Однако до настоящего времени мало известно о роли этих факторов в старении и изменении функции мозга при нем (Keller, 2006).

Аргирофильные зерна, впервые описанные в 1987 г., представляют собой белковые внутриклеточные агрегаты, появляющиеся в виде овальных, веретенообразных или в форме запятой отложений в нейронах и глиальных клетках (Tolnay, Clavaguera, 2004). Эти отложения легко отличимы от других форм нейрофибрилярных поражений, поскольку они не обнаружи-

ваются в нейрональном перикариии. Их выявляют обычным окрашиванием серебром по Бильшовскому, но часто используют технику Галаля с использованием йодида серебра. Аргирофильные зерна содержат повторы белка tau, 64 и 69 kDa tau и могут быть выявлены с помощью антител как к нормальному, так и патологическому белку tau. Аргирофильные зерна обнаружены в кортикальных структурах мозга, но выявляются и в субкортикальных образованиях, преимущественно в группе базолатеральных ядер миндалины. Наибольшая плотность аргирофильных зерен обнаруживается в латеральном туберальном ядре гипоталамуса (Keller, 2006). При выраженном накоплении аргирофильных зерен может развиваться так называемая болезнь аргирофильных зерен, проявляющаяся деменцией. Поскольку эти зерна связаны с tau патологией, полагают, что появление аргирофильных зерен может быть адаптационным ответом, предотвращающим более разрушительные нейрофибриллярные поражения.

Роль возрастного накопления нейромеланина в клетках головного мозга, преимущественно в черной субстанции и сером пятне, не установлена. Возможно, что он образуется в результате аутоокисления дофамина. Нейромеланин связывает многие металлы, прежде всего железа, а также ряд токсических агентов (Keller, 2006).

Наиболее изученной патологией, наблюдаемой в головном мозге и практически всех тканях старых организмов, является отложение липофусцина (Terman, Brunk, 2004). Появление липофусцина является безусловным признаком старения для всех клеток головного мозга, причем в постмитотических клетках его содержится больше, чем в делящихся. Липофусцин состоит из белка (30—70 %) и липидов (20—50 %), большая часть которых сильно окислена (Szweda et al., 2003). Липофусцин содержит значительное количество металлов, особенно железа. Полагают, что липофусцин образуется при неполной лизосомальной деградации митохондрий (Keller, 2006). Значение накопления в мозге старых организмов липофусцина неясно. Поскольку он образуется в клетках постоянно, предполагается, что в молодом возрасте он играет какую-то позитивную (впрочем, не выясненную) роль, тогда как при накоплении какого-то критического его количества в клетке липофусцин может оказывать неблагоприятное действие на ее функции, например усиливать активацию про-апоптотических белков (Powell et al., 2005).

### **6.3. БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ СТАРЕНИИ**

Значительное число исследований свидетельствует о существенных изменениях в концентрации и/или обмене нейромедиаторов в мозге. Эти изменения касаются адренергических, дофаминергических и серотонинергических активностей у стареющих животных и человека, а также пептидер-

Таблица 6.1

**Сведения об изменениях уровня и обмене биогенных аминов  
в гипоталамусе человека и животных при старении  
(Анисимов, 1979, с дополнениями)**

Медиатор, фермент Параметры	Вид	Характер изменения
Дофамин: уровень поглощение	Крыса	↓
	Мышь	↓
Норадреналин: уровень обновление поглощение	Человек, обезьяна, крыса	↓
	Мышь, крыса	↓
	Мышь	=
Серотонин: уровень поглощение	Человек, крыса, мышь	=
	Мышь	=
Тирозин-гидроксилаза	Человек, крыса	=
Триптофан-5-гидроксилаза	Крыса	↓ (в целом мозге)
ДОФА-декарбоксилаза	Человек	↓
	Мышь	=
Моноаминоксидаза	Человек	↑ (в стволе мозга)
	Крыса	= или ↑
КОМТ*	Тот же	↑
Ацетилхолинэстераза	» »	↑
Гистамин	» »	=
ГАМК**	» »	↓

Примечание. \* — катехол-О-метилтрансфераза; \*\* — гамма-аминомасляная кислота.

гических нейронов. Одной из ведущих причин этих нарушений является иногда полная утрата рецепторов (Roth, Joseph, 1988).

Известно, что синапсы могут использовать один или более медиаторов. Множественные уровни контроля и региональные особенности различных синапсов в отдельных областях мозга затрудняют определение связанных с возрастом повреждений нейромедиаторных/неuropeпидных функций. Возрастная динамика состояния нейромедиаторов всей нервной системы скорее характеризуется «десинхронизацией», чем одинаковым снижением уровня специфических нейромедиаторов. Например, в то время как в пожилом возрасте содержание в мозге норадреналина и дофамина падает, уровень серотонина остается неизменным или даже увеличивается в различных областях мозга. В некоторых случаях чем выше концентрация нейромедиатора в той или иной части мозга, тем сильнее выражено ее снижение с воз-



растом и наоборот. Связанные с возрастом изменения концентраций нейромедиаторов не всегда происходят одновременно, а имеют как бы собственное «расписание» (Анисимов, 1979).

Чувствительность  $\beta$ -адренергических рецепторов, связанная с блокадой передающего сигнала аденилат-циклазного комплекса, уменьшается с возрастом (Lakatta, 1980). В шишковидной железе, полосатом теле и мозжечке крысы снижается чувствительность к катехоламинам из-за уменьшения сродства  $\beta$ -адренергических рецепторов к их лигандам. Однако изменения количества самих рецепторов не отмечено.

Поскольку одним из важнейших регуляторных отделов нервной системы, играющим ведущую роль в механизме старения, является гипоталамус, значительное число работ было посвящено изучению возрастной динамики его изменений. В табл. 6.1 приведены данные о динамике некоторых показателей в гипоталамусе человека и животных.

В клетках нервной системы с возрастом меняется состав липидов, что может приводить к снижению вязкости мембран. С возрастом в головном мозге усиливается активность свободнорадикальных процессов и накапливаются мутации ядерной и митохондриальной ДНК (Анисимов и др., 1999; von Zglinicki et al., 2001). Этот процесс сопровождается возрастным снижением эффективности репарации ДНК (von Zglinicki et al., 2001). В отдельных участках мозга снижается синтез белков, накапливается липофусцин. Следует заметить, что, несмотря на непосредственную связь степени накопления липофусцина в нервной системе и окислительным стрессом, функциональное значение этого накопления остается неясным. Отмечено изменение баланса микроэлементов и электролитов в мозге при старении (Brizze, 1981). Старение сопровождается снижением содержания воды в мозговой ткани и изменением сосудистой циркуляции в мозге (Meisami, 1988).

#### 6.4. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПТОМА В ЦНС

С помощью микрочиповой технологии (высокой плотности олигонуклеотидный анализ) были исследованы профили генетической экспрессии (более 11 000 генов) в коре головного мозга и гипоталамусе мышей линии BALB/c в возрасте 2 и 22 мес. (Jiang et al., 2001). В гипоталамусе старых мышей экспрессия 99 генов существенно отличалась от таковой у молодых. В коре головного мозга различия выявлены в экспрессии 98 генов. 20 % обнаруженных изменений наблюдались как в коре, так и в гипоталамусе.

В гипоталамусе старых мышей увеличивалась экспрессия генов, регулирующих активность митохондриальных генов дыхательной цепи. Более чем в 2 раза была увеличена экспрессия четырех субъединиц НАДН-убихинон оксидоредуктазы, двух субъединиц цитохром *c* оксидазы и трех субъединиц АТФ синтазы (Jiang et al., 2001). Эти данные свидетельствуют об увеличении генерации АФК в гипоталамусе старых мышей. В коре головного мозга

изменения экспрессии митохондриальных генов не были выявлены. Как в гипоталамусе, так и в коре головного мозга наблюдалось снижение активности многих АТФаз, включая  $\text{Na}/\text{K}^+$  АТФазу,  $\text{Ca}^{2+}$  АТФазу и  $\text{H}^+$  АТФазу, уровень которых снижался от 2 до 10 раз. Эти наблюдения согласуются с данными о возрастных изменениях в нормальном ионном гомеостазе в мозге и могут играть определенную роль в нарушении проведения сигналов в нервной системе. Важной находкой в этой работе было также обнаружение возрастного снижения экспрессии ряда генов, участвующих в синаптической передаче сигналов как в гипоталамусе, так и в коре головного мозга. Среди них — синаптотагмин I и N-этилмалеимидо-чувствительный фактор, которые участвуют в регуляции высвобождения нейромедиаторов из синаптических везикул. Уровень экспрессии этих генов у старых мышей снижался более чем в 10 раз по сравнению с молодыми животными. Более чем в 3 раза в коре и гипоталамусе снижалась с возрастом экспрессия сАМР-зависимой протеинкиназы С $\beta$ , играющая важную роль в синаптической пластичности и формировании памяти. Были обнаружены также существенные возрастные изменения в экспрессии генов, регулирующих нейрональные структуры, активность протеаз, генов апоптоза, стрессорного ответа. Таким образом, данные исследования экспрессии транскрипта свидетельствуют о том, что существенные изменения функции нервной системы обусловлены изменениями в регуляторной активности многих генов.

## 6.5. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Несмотря на морфологические и биохимические изменения, наблюдаемые в стареющем мозге, оказывается, что функциональная полноценность нервной системы хорошо сохраняется и у самых старых людей. Возможно, наиболее распространенное и значимое изменение, наблюдаемое в стареющем организме — это заторможенность (медлительность) поведения. Медлительность обнаруживается с возрастом не только в двигательных реакциях и восприятии, но также очевидна при сложных процессах усвоения информации, которые ассоциируются с краткосрочной памятью (Smith et al., 1980). Получены убедительные доказательства того, что некоторые виды работоспособности мозга снижаются к 70 годам жизни, в то время как другие (например, вербальные) сохраняются в течение всей жизни здоровых людей (Gallagher et al., 1980). Ассоциируемая со старостью заторможенность и потеря координации при ходьбе, так же как и при письме и других целенаправленных движениях, может быть связана с увеличением времени реакции у стариков. В целом отмечают постепенное снижение с возрастом когнитивных функций (Petersen, 2000; Li et al., 2001).

Ярким примером возрастных изменений биоритмов служит изменение циклов сон/бодрствование, что в основном зависит от ретикулярной системы. Нарушения стадий сна в старости носят более качественный, чем коли-

чественный характер, и касаются главным образом фаз глубокого сна. Эти изменения проявляются в характере электрической активности мозга (Pandi-Perumal et al., 2002; Van Someren et al., 2002).

Нарушения осанки и локомоторной функции в старости также зависят от повреждения ЦНС. Установлено снижение скорости проведения импульса по волокну периферических нервов. Дисфункция вегетативной нервной системы в старости также проявляется многими патофизиологическими изменениями, включая гипотонию, нарушения терморегуляции, желудочно-кишечные расстройства и недержание мочи (Finch, Landfield, 1985). Следует отметить возрастные изменения сосудистых и сердечных рефлексов, электропроводимости кожи и потенции. Указывают на повышение в старости активности симпатической нервной системы, что может влиять на познавательные функции.

Старение мозга не сказывается избирательно на функции нервной системы, а оказывает многообразное влияние на состояние и функциональную активность практически всех систем организма, включая те функции, которые, по современным представлениям, имеют первостепенное значение как факторы, определяющие продолжительность жизни. К ним относят, в частности, сигнальный путь IGF-1 и нейротрофные ростовые факторы (фактор роста фибробластов, нейротрофный фактор мозга, фактор роста нервов, цилиарный нейротрофный фактор) (Mattson et al., 2002). Ряд генов, вовлеченных в патогенез нейродегенеративных процессов, участвует также в развитии опухолей, определяя индивидуальную чувствительность к некоторым канцерогенным факторам окружающей среды.

#### **6.6. СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДИФФУЗНОЙ НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ (ДНИЭС) ПРИ СТАРЕНИИ**

Работы, в которых бы непосредственно изучались возрастные изменения в клетках APUD-системы, весьма немногочисленны. Кишечник является главным органом ДНИЭС (Пальцев, Кветной, 2006), поэтому большое значение имеет работа, в которой были исследованы нейроэндокринные клетки пилорической части желудка и 12-перстной кишки мышей долгоживущей линии BALB/c-nu в возрасте 4, 21 и 34 месяцев (Kvetnoy et al., 2001; Трофимов и др., 2005). Были использованы следующие гистохимические и иммуногистохимические методы идентификации таких клеток:

- аргирофильный метод Гримелиуса для выявления популяции нейроэндокринных клеток кишечника;
- окраска серебром по Масону для выявления продуцирующих серотонин энтерохромаффинных клеток;
- метод Мозера для идентификации апоптозных клеток (модифицированный метод Гомори);

Таблица 6.2

**Возрастная динамика нейроэндокринных клеток  
в кишечнике мышей BALB/c-nu**

Количество клеток/мм <sup>2</sup>	Возраст мышей, мес.		
	4	21	34
<b>Желудок</b>			
Общее число НЭК (Гримелиус)	604 ± 42	705 ± 53	753 ± 53
Серотонин/мелатонин-продуцирующие ЕС-клетки	325 ± 52	345 ± 49	389 ± 46
Клетки, продуцирующие соматостатин (D-клетки)	95 ± 12	111 ± 17	126 ± 24
Клетки, продуцирующие гастрин (G-клетки)	400 ± 27	374 ± 34	327 ± 55
<b>12-перстная кишка</b>			
Общее число НЭК (Гримелиус)	196 ± 14	311 ± 14	303 ± 11
Серотонин/мелатонин-продуцирующие ЕС-клетки	186 ± 7	372 ± 21	431 ± 22
Общее число ядер эпителиальных клеток	6486 ± 92	6374 ± 95	6121 ± 55
Индекс PCNA	15.7 ± 0.7	15.7 ± 0.8	17.6 ± 1.1
Апоптотический индекс	0.48 ± 0.06	0.47 ± 0.06	0.85 ± 0.09*

Примечание. \* — различие с показателем для возраста 4 мес. достоверно,  $p < 0.05$ .

• иммуногистохимический метод с использованием антител для выявления серотонина, мелатонина, соматостатина, гастрин и пролиферативного ядерного антигена (PCNA).

Основные результаты представлены в табл. 6.2. Можно видеть, что в желудке мышей общее число нейроэндокринных клеток имеет тенденцию к увеличению, однако число различных типов этих клеток с возрастом изменяется неодинаково: если количество клеток, продуцирующих соматостатин, с возрастом неуклонно увеличивается, то гастрин-продуцирующих клеток становится меньше. В 12-перстной кишке 21- и 34-месячных мышей общее количество нейроэндокринных клеток существенно больше, чем у мышей в возрасте 4 месяцев. С возрастом увеличивалось и количество клеток, продуцирующих серотонин и мелатонин. При этом общее количество эпителиальных клеток и их пролиферативная активность в кишке с возрастом не изменялись, тогда как в самой старшей возрастной группе существенно повышался апоптотический индекс.

Имеются наблюдения об увеличении числа гастрин-продуцирующих клеток между 1 и 12 месяцами жизни и последующем снижении их числа к 24 месяцу жизни у мышей (Sandstrom et al., 1999). В этой же работе было показано постепенное возрастное увеличение числа соматостатин-иммунореактивных клеток при сравнении мышей в возрасте 3, 12 и

24 месяцев. Количество клеток, секретирующих серотонин, также было повышено у 12-месячных мышей по сравнению с 3-месячными. Однако число клеток, продуцирующих VIP, субстанцию Р, галанин и нейротензин, было сниженным у 12- и 24-месячных мышей по сравнению с молодыми мышами.

У морских свинок с возрастом существенно увеличивалось количество нейроэндокринных (APUD) клеток в предстательной железе, что коррелировало с содержанием серотонина в ткани железы (Di Sant'Agnesse et al., 1987).

### Литература

Анисимов В. Н., Арутюнян А. В., Опарина Т. И. и др. Возрастные изменения активности свободнорадикальных процессов в тканях и сыворотке крови крыс // Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова. 1999. Т. 84. С. 502—507.

Анисимов В. Н. Изменения уровня биогенных аминов в головном мозге лабораторных животных и человека в процессе развития и старения // Успехи физиол. наук. 1979. Т. 10, № 1. С. 54—75.

Кветной И. М., Южаков В. В. Диффузная эндокринная система: Руководство по гистологии / Под ред. З. К. Даниловой. Т. 2. СПб.: Спецлит. 2001. С. 509—541.

Пальцев М. А., Кветной И. М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2006. 384 с.

Трофимов А. В., Князькин И. В., Кветной И. М. Нейроэндокринные клетки желудочно-кишечного тракта в моделях преждевременного старения. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2005. 208 с.

Brizze K. R. Structural correlates of the aging process in the brain // Psychopharmacol. Bull. 1981. Vol. 17. P. 43—52.

Di Sant'Agnesse P. A., Davis N. S., Chen M., de Mesy Jensen K. L. Age-related changes in the neuroendocrine (endocrine-paracrine) cell population and the serotonin content of the guinea pig prostate // Lab. Invest. 1987. Vol. 57. P. 729—736.

Finch C. E. Neurons, glia, and plasticity in normal brain aging // Успехи геронтол. 2002. Т. 10. С. 35—39.

Finch C. E., Landfield P. W. Neuroendocrine and autonomic functions in aging mammals // Handbook of the Biology of Aging. 2<sup>nd</sup> ed. / Eds C. E. Finch, E. L. N. Y. Schneider. Van Nostrabd Reinhold Co., 1985. P. 645—691.

Gallagher D., Thompson L. W., Levy S. M. Clinical psychological assessment of older adults // Aging in the 1980<sup>ths</sup>: Psychological Issues. Washington, DC: Amer. Psychol. Press, 1980. P. 19—40.

Jiang C. H., Tsien J. Z., Schultz P. G., Hu Y. The effect of aging on gene expression in the hypothalamus and cortex of mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 1930—1934.

Keller J. N. Age-related neuropathology, cognitive decline, and Alzheimer's disease // Ageing Res. Rev. 2006. Vol. 5. P. 1—13.

Kvetnoy I. M., Popuchiev V., Mikhina L., Anisimov V. N. et al. Gut neuroendocrine cells: relationship to the proliferative activity and apoptosis of mucous epitheliocytes in aging // Neuroendocr. Lett. 2001. Vol. 22. P. 337—341.

Lakatta E. G. Age-related alteration in the cardiovascular response to adrenergic mediators stress // Fed. Proc. 1980. Vol. 39. P. 3173—3177.

Li S. C., Lindenberger U., Sikstrom S. Aging cognition: from neuromodulation to representation // Trends Cogn. Sci. 2001. Vol. 5. P. 479—486.

Mattson M. P., Duan W., Maswood N. How does the brain control lifespan? // Ageing Res. Rev. 2002. Vol. 1. P. 155—165.

- Meisami R.* Aging of the nervous system structural and biochemical changes // *Physiological Basis of Aging and Geriatrics* / Ed. P. S. Timiras. N. Y.: Macmillan Publishing Co., 1988. P. 123—143.
- Pakkenberg B., Pelvig D., Marnier L. et al.* Aging and the human neocortex // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 95—99.
- Pandi-Perumal S. R., Seil L. K. et al.* Senescence, sleep, and circadian rhythms // *Ageing Res. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 559—604.
- Pearse A. G.* The diffuse endocrine system and the implications of the APUD concept // *Int. Surg.* 1979. Vol. 64. P. 5—7.
- Petersen R. C.* Aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease // *Neurol. Clin.* 2000. Vol. 18. P. 789—806.
- Powell S. R., Wang P., Divald A. et al.* Aggregates of oxidized proteins (lipofuscin) induce apoptosis through proteasome inhibition and dysregulation of proapoptotic proteins // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. Vol. 38. P. 1093—1101.
- Roth G. S., Joseph J. A.* Peculiarities of the effect of hormones and transmitters during aging: Modulation of changes in dopamin action // *Gerontology.* 1988. Vol. 34. P. 22—28.
- Rutten B. P. F., Korr H., Steinbusch H. W. M., Schmitz C.* The aging brain: less neurons could be better // *Mech. Ageing Dev.* 2003. Vol. 124. P. 349—355.
- Sandstrom O., Mahdavi J., El-Salhy M.* Age-related changes in antral endocrine cells in mice // *Histol Histopathol.* 1999. Vol. 14. P. 31—36.
- Smith D. B. D., Thompson L. W., Michalewski H. J.* Average evoked potential research in adult aging — status and prospects // *Aging in the 1980s.* Washington, DC: Amer. Psychological Association, 1980. P. 135—151.
- Szweda P. A., Camouse M., Lundberg K. C. et al.* Aging, lipofuscin formation, and free radical mediated inhibition of cellular proteolytic systems // *Ageing Res. Rev.* 2003. Vol. 2. P. 483—405.
- Terman A., Brunk U. T.* Lipofuscin // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2004. Vol. 26. P. 1400—1404.
- Tolnay M., Clavaguera F.* Argrophilic grain disease: a late-onset dementia with distinctive features among tauopathies // *Neuropathology.* 2004. Vol. 24. P. 269—283.
- Van Someren E. J. W., Raymann R. J. E. M., Scherder E. J. A. et al.* Circadian and age-related modulation of thermoreception and temperature regulation: mechanisms and functional implications // *Ageing Res. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 721—778.
- Von Zglinicki T., Burkle A., Kirkwood T. B. L.* Stress, DNA damage and ageing — an integrative approach // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 1049—1062.

## Глава 7

# СТАРЕНИЕ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Природа знать не знает о былом,  
Ей чужды наши призрачные годы,  
И перед ней мы смутно сознаем  
Себя самих — лишь грезой природы.

*Ф. И. Тютчев*

### 7.1. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЕ

#### 7.1.1. Регуляция репродуктивной системы у млекопитающих

Возрастные изменения в репродуктивной системы в основном определяются изменениями, первично происходящими в центральной нервной системе (прежде всего в гипоталамусе), и тесно связанными с ними изменениями в гипофизе и гонадах. Если наступление менопаузы — фиксированное во времени событие, свидетельствующее о прекращении функции яичников, то снижение тестикулярной функции проходит медленно и постепенно, характеризуясь ограниченными гормональными сдвигами. Пожилые люди в норме реагируют на недостаточность функции гонад увеличением синтеза гонадотропинов (Wise et al., 2005). Это имеет место у людей обоего пола. С возрастом наблюдаются изменения функции всех звеньев репродуктивного гомеостата (рис. 7.1).

Как известно, овуляторный цикл определяется периодическими изменениями активности гипоталамических половых центров, регулирующих соотношение гормонов гипофиза и яичников. Овуляторные циклы крысы и женщины имеют ряд отличий, что следует учитывать при анализе механизмов их нарушений. Прежде всего необходимо упомянуть некоторые видовые особенности спектра секретируемых стероидов и специфической активности гормонов гипофиза. Так, у женщин основным прогестином является прогестерон, тогда как у крыс секретируется главным образом 20- $\alpha$ -гидроксипрогестерон.

У молодых половозрелых самок крыс, у которых овуляция, как и у женщин, происходит спонтанно (в отличие от животных, у которых овуляция и размножение имеет сезонный характер), регуляция репродуктивной системы происходит следующим образом. Повышенный уровень гонадотропин-рилизинг гормона (GnRH) в гипоталамусе в конце диэструса и в утро проэструса ведет к одновременному усилению синтеза ФСГ в гипофизе, а затем секреции его, что проявляется в падении содержания ФСГ в гипофизе и увеличении содержания его в плазме крови. Повышение в организме уровня ФСГ вызывает рост фолликулов в яичнике и совместно с ЛГ увели-

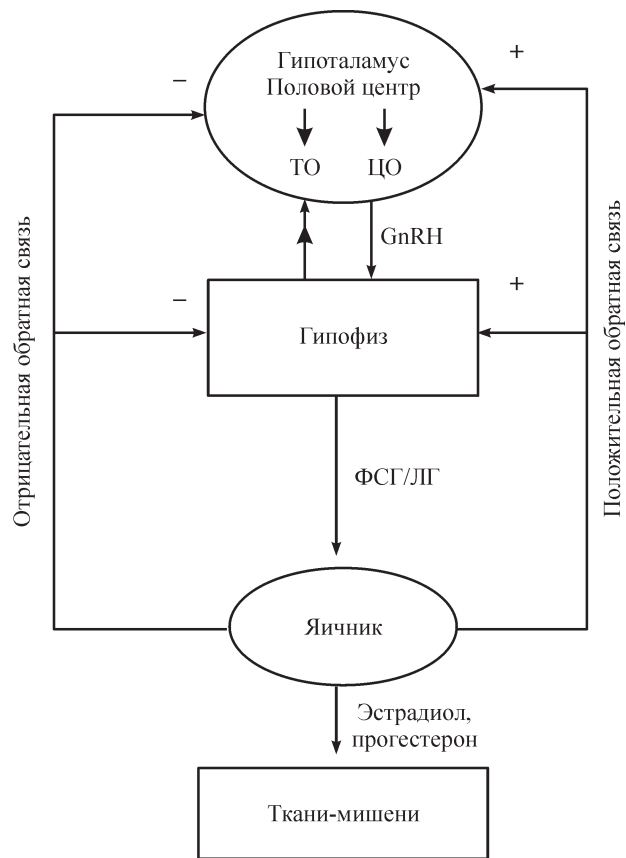


Рис. 7.1. Схема репродуктивной системы млекопитающих.

чивает продукцию эстрогенов, повышение уровня которых в свою очередь начинает подавлять секрецию ФСГ. Этот этап регуляции осуществляется на гипоталамическом уровне, так как содержание GnRH в гипоталамусе снижается в день проэструса и в эструсе. Повышение уровня эстрогенов стимулирует секрецию ЛГ и пролактина. В раннем проэструсе содержание ЛГ примерно в 1.5 раза больше, чем в эструсе. Это значительное повышение уровня ЛГ в организме вызывает овуляцию и образование желтых тел, стимуляцию которых могут осуществлять как ЛГ, так и пролактин. Начавшись после овуляции, секреция прогестинов усиливается, достигая максимума в диэструсе. Нарастающий уровень прогестинов, угнетая пролактин-ингибирующий фактор гипоталамуса, приводит к усилению секреции пролактина, который необходим для поддержания функциональной активности желтого тела. Повышенное образование прогестинов блокирует GnRH и, соответственно, снижает уровень ЛГ, достигающего своего минимума в эструсе. Снижение уровня ЛГ в организме ведет в свою очередь к растормаживанию



области гипоталамуса, регулирующей фолликулостимулирующую функцию гипофиза, и цикл начинается снова.

У молодых женщин после наступления менструации концентрация ФСГ в крови начинает постепенно возрастать, что обеспечивает рост и созревание фолликулов в яичниках. Синтез в яичниках эстрогенов контролируется совместным влиянием ФСГ и ЛГ. Овуляция происходит в результате так называемого овуляторного выброса ЛГ и ФСГ, которое наступает в середине межменструального периода и индуцируется предовуляционным пиком секреции эстрадиола, действующего на циклический половой центр гипоталамуса. Последний через катехоламиновый механизм стимулирует тонический половой центр, который продуцирует гонадотропин-рилизинг гормон, контролирующей секрецию гонадотропинов. После овуляции уровень гонадотропинов в крови снижается, существенно снижается и концентрация в крови эстрадиола. Затем происходит нарастание уровня прогестерона, а также эстрогенов, секреция которых осуществляется главным образом желтым телом. Под влиянием повышенной секреции прогестерона и эстрогенов к моменту расцвета желтого тела происходит значительное подавление секреции ЛГ, что вызывает совместно с простагландинами регрессию и гибель желтого тела и снижение уровня в крови эстрадиола и прогестерона. Параллельно циклическим гормональным изменениям в эндометрии происходят вначале пролиферативные изменения, обусловленные действием эстрогенов, сменяющиеся секреторными, связанными с действием прогестерона. Лизис желтого тела приводит к резкому снижению обоих этих гормонов, что ведет к отторжению поверхностных слоев слизистой эндометрия, т. е. наступлению менструации. Уже в этот период отмечается кратковременный подъем уровня ФСГ в крови, обусловленный снижением интенсивности эстрогенового сигнала по механизму отрицательной обратной связи, приводящей к росту новой группы фолликулов и повторению цикла (Дильман, 1968).

### 7.1.2. Возрастные изменения женской половой системы

По мере увеличения возраста у женщины между 25 и 45 годами происходит почти пятикратное увеличение экскреции гонадотропинов (Дильман, 1968), причем в этот период еще не наблюдается возрастного снижения уровня эстрогенов в крови. Эти данные свидетельствуют о том, что изменения продукции гонадотропинов не являются результатом «кастрационного» эффекта, т. е. не связаны с первичной овариальной гомеостатической недостаточностью, а напротив, характеризуют центральный тип гомеостатической недостаточности, при котором одновременно происходит увеличение активности как центрального (гипоталамо-гипофизарного), так и периферического (овариального) звеньев репродуктивного гомеостата.

У женщин прекращение овариальной функции характеризуется переходом от регулярного менструального цикла к менопаузе, которой предшеств-

вует период нерегулярных циклов. Полагают, что начальные изменения происходят в гипоталамо-гипофизарной системе, контролирующей деятельность яичников. Возрастное снижение репродуктивной функции связывается с постепенным повышением порога чувствительности гипоталамо-гипофизарного комплекса к гомеостатической регуляции эстрогенами по типу обратной связи (Dilman, 1971; Дильман, 1987). Это приводит к возрастному увеличению продукции гипофизарных гонадотропинов (ФСГ и ЛГ), которое в свою очередь обуславливает гиперстимуляцию яичников. При этом в яичниках развивается гиперплазия тека-ткани, которая обеспечивает повышенную продукцию эстрогенов. Однако, несмотря на компенсаторное увеличение продукции овариальных гормонов, в определенном возрасте (около 45—50 лет у женщин и в 14—16 мес. у самок крыс) уровень эстрогенов оказывается недостаточным, чтобы вызвать овуляцию из-за снижения чувствительности к ним гипоталамуса. Возможно, что в основе этого лежит возрастное снижение уровня биогенных аминов и/или рецепторов к пептидным гормонам (Dilman, Anisimov, 1979). Кроме того, важную роль в снижении репродуктивной функции играет прогрессивная утрата ооцитов, поскольку сокращение числа зрелых ооцитов может вызвать десинхронизацию взаимодействия между гипофизарно-овариальными гормонами (Aschheim, 1976).

Доказательством первичности центрального (гипоталамического) механизма возрастного выключения репродуктивной функции у самок крыс могут служить результаты опытов с реципрокной пересадкой яичников кастрированным в разном возрасте животным. При пересадке яичников от молодых самок старым животным, имевшим перед операцией персистирующий эструс, у них сохраняется состояние постоянного эструса, т. е. трансплантированные «молодые» яичники теряют способность к овуляции. Напротив, у молодых крыс пересаженные от старых самок яичники обеспечивают циклический характер овуляторного цикла (Aschheim, 1976). При электролитическом разрушении преоптической области гипоталамуса у молодых самок крыс развивался синдром персистирующего эструса, как это имеет место у старых животных, а электрохимическая стимуляция этой области у старых крыс с нарушенным эстральным циклом восстанавливала овуляторный выброс ЛГ (Meites, 1990).

В наших опытах было установлено, что у самок крыс с возрастом происходит постепенное увеличение дозы экзогенных эстрогенов, необходимых для подавления компенсаторной гипертрофии яичников, вызванной гемикастрацией (рис. 7.2), что свидетельствует о возрастном повышении порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическому торможению эстрогенами (Анисимов и др. 1974; Dilman, Anisimov, 1979). Этот эффект проявлялся как при подкожном введении эстрогенов, так и при введении их в 3-й желудочек головного мозга. Эти наблюдения соответствуют данным о возрастном снижении электрофизиологической чувствительности нейронов к действию эстрогенов (Бабичев, 1973).

Изучение влияния различных фармакологических средств на способность эстрогенов подавлять компенсаторную гипертрофию яичника выя-

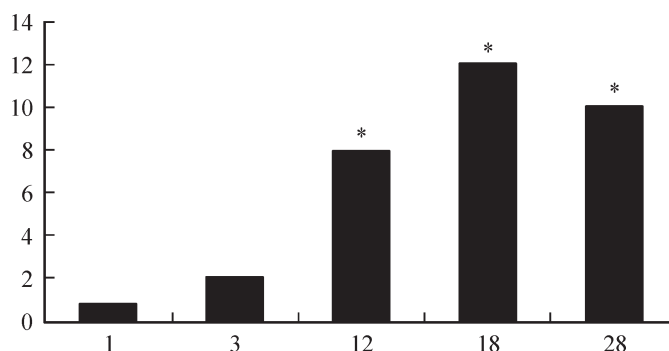


Рис. 7.2. Возрастные изменения дозы диэтилстильбэстрола, вызывающие подавление компенсаторной гипертрофии яичника у самок крыс (Dilman, Anisimov, 1979).

По оси абсцисс — возраст крыс, мес.; по оси ординат — доза диэтилстильбэстрола, мкг/нед. \* — различие с возрастом 3 мес. достоверно,  $p < 0.05$ .

вило важную роль катехоламинов (норадреналина и дофамина) в механизме возрастного выключения репродуктивной функции у самок крыс. Применение предшественника катехоламинов L-ДОФА у старых животных не только восстанавливало способность эстрогенов подавлять продукцию ФСГ (рис. 7.3), но и приводило к возобновлению у них нормальных эстральных циклов (Dilman, Anisimov, 1979). При длительном введении L-ДОФА, начатом с 3-месячного возраста, мы наблюдали замедление возрастного выключения репродуктивной функции и увеличение продолжительности жизни животных (Dilman, Anisimov, 1979, 1980). Наряду с L-ДОФА, среди изученных препаратов, аналогичными свойствами обладали дифенин, по-

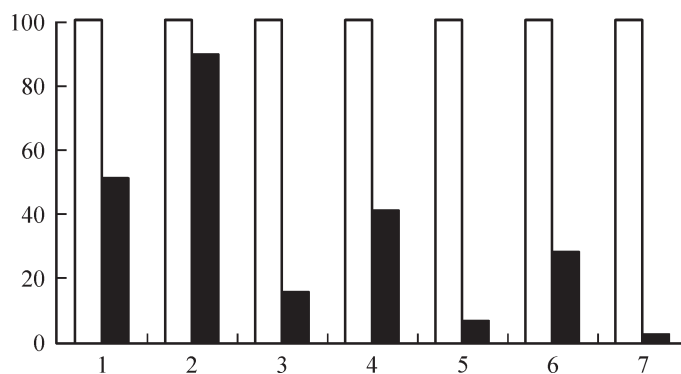


Рис. 7.3. Влияние фармакологических препаратов на способность эстрогена подавлять компенсаторную гипертрофию яичников у старых крыс (Дильман, Анисимов, 1975, 1979).

По оси абсцисс: 1 — контроль, 3 мес.; 2 — контроль, 17—19 мес.; 3 — L-ДОФА; 4 — дифенин; 5 — эпигаламин; 6 — фенформин; 7 — янтарная кислота. По оси ординат — КГЯ, %. Светлые столбики — контроль; черные — введение диэтилстильбэстрола. За 100 % в каждой группе принята величина компенсаторной гипертрофии яичника (КГЯ) у крыс, не получавших эстроген. Различие с контролем в каждой из групп (1, 3—7) достоверно,  $p < 0.05$ .

липептидный препарат эпифиза эпиталамин, антидиабетический бигуанид фенформин, которые также повышали чувствительность гипоталамо-гипофизарной системы к ингибирующему действию эстрогенов (рис. 7.3) (Dilman, Anisimov, 1979). Все эти препараты были также изучены в отношении их геропротекторного эффекта и была установлена их способность увеличивать продолжительность жизни лабораторных грызунов (см. главу 15).

Наибольший интерес представляет то обстоятельство, что сходным влиянием обладают препараты с различным механизмом действия. L-ДОФА, как уже упоминалось, вероятнее всего, влияет путем увеличения в гипоталамусе уровня катехоламинов. Это соответствует данным о снижении уровня катехоламинов в гипоталамусе в процессе старения (Анисимов, 1979) и о возможности восстановления циклической эстральной функции у старых крыс путем введения L-ДОФА и норадреналина (Quadri et al., 1973). Можно полагать, что дифенин оказывает свое действие за счет влияния на калиевый «насос» и на обмен биогенных аминов, тогда как фенформин улучшает метаболизм углеводов в организме в целом и, вероятно, в глиальных элементах мозга, осуществляющих трофическое обеспечение нейронов (Dilman, Anisimov, 1979).

P. Wise и соавт. (2005) подчеркивают сходство и первичность гипоталамических механизмов возрастного выключения овуляторной функции яичников у женщин и самок грызунов. Так, во-первых, первичным признаком, указывающим на начало процесса снижения репродуктивной функции является повышение уровня ФСГ в крови женщин и крыс. У женщин это изменение наиболее выражено в перивуляторную фазу менструального цикла, а у крыс среднего возраста повышенный уровень ФСГ выявляется в утро фазы эструса овуляторного цикла. Во-вторых, как у женщин, так и у крыс, наблюдается аналогичный характер возрастных изменений циклической продукции ЛГ. В-третьих, с возрастом увеличивается вариабельность длительности менструального цикла у женщин и эстрального цикла у крысы. У женщин эти нарушения обычно наблюдают в возрасте 37—45 лет, перед началом перехода в перименопаузальный период. У крыс по нашим наблюдениям аналогичные изменения длительности эстрального цикла обычно развиваются в возрасте 14—16 мес. В-четвертых, хотя постменопаузальный период у женщин характеризуется исключительно низким уровнем эстрадиола в крови, было показано, что его концентрация не уменьшается в течение пре- и перименопаузальных периодов, оставаясь нормальной или даже повышенной (Дильман, 1987; Wise et al, 2005). Аналогичным образом, у крыс среднего возраста наблюдается повышенный уровень эстрадиола в фазе проэструса эстрального цикла (Lu et al., 1994). Наконец, как у перименопаузальных женщин, так и у крыс среднего возраста снижена способность эстрогенов вызывать преовуляторный выброс ЛГ (Wise et al., 2005). Авторы полагают, что крыса может служить великолепной моделью при изучении механизмов, ответственных за возрастное выключение репродуктивной функции у женщин.

Используя измерение экспрессии гена *Fos* в нейронах передней преоптической области гипоталамуса, в качестве маркеров продукции GnRH, R. Wise и соавт. (2005) обнаружили существенное снижение числа нейронов, продуцирующих этот рилизинг-гормон у крыс среднего возраста с еще сохраненной эстральной функцией.

В элегантных опытах, выполненных еще более 50 лет тому назад, было показано, что предовуляторный подъем ЛГ у крыс находится под контролем циркадианного пейсмейкера (Everitt, Sawyer, 1953). Эти наблюдения нашли свое подтверждение в многочисленных последующих исследованиях, выполненных с использованием различных методических приемов (Wise et al., 2005). Была показана важная роль нарушений в синхронизации и координации множественных нейрональных сигналов, определяющих ритм секреции GnRH, что в конечном счете приводит к глубоким изменениям в способности крыс среднего возраста поддерживать регулярный эстральный цикл. Среди нейромедиаторов, которые вовлечены в механизмы возрастного выключения репродуктивной функции, следует упомянуть наряду с катехоламинами, ГАМК, вазоактивный интестинальный полипептид (VIP), ацетилхолин, серотонин и другие (Dilman, Anisimov, 1979; Anisimov, 1987; Wise et al., 2005; Yin, Gore, 2006).

У самок крыс уровень GnRH мРНК был выше в гипоталамусе циклирующих крыс среднего возраста (12—14 мес.) и старых (25—26 мес.) ациклических крыс по сравнению с молодыми (4—5 мес.) самками, однако уровень первичных транскриптов, как показатель генной транскрипции, был существенно ниже у старых по сравнению со взрослыми или молодыми крысами (Yin, Gore, 2006). Эти наблюдения, а также аналогичные данные, полученные у женщин, свидетельствуют о том, что возрастное увеличение GnRH мРНК развивается независимо от *de novo* генной транскрипции. Предовуляторный пик экспрессии GnRH мРНК был отчетливо выражен у молодых крыс, но отсутствовал у самок среднего возраста. Так же с возрастом была снижена и чувствительность GnRH мРНК-позитивных клеток к действию эстрогенов в гипоталамусе крыс среднего возраста по сравнению с молодыми (Yin, Gore, 2006).

Таким образом, можно полагать доказанным, что первичным механизмом, ответственным за возрастное выключение репродуктивной функции, является повышение порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическому действию эстрогенов.

### **7.1.3. Трансплантация молодых яичников увеличивает продолжительность жизни старых овариоэктомированных мышей**

Следует, однако, привести неожиданные результаты, которые были получены в опыте S. L. Cargill и соавт. (2003). Самкам мышей CBA/J, овариоэктомированным в возрасте 21—22 дней, сразу после операции в каждую капсулу яичника был имплантирован стеклянный шарик диаметром 1 мм.

В возрасте 5, 8 или 11 мес. эти стеклянные шарики удаляли и на их место билатерально трансплантировали яичники от 2-месячных мышей этой же линии. Контролем служили ложно оперированные мыши. Яичники от половозрелых доноров, трансплантированные мышам в возрасте 11 мес., увеличивали оставшуюся продолжительность жизни мышей на 60 % (137 сут.) по сравнению с овариоэктомированными мышами. При этом максимальная продолжительность жизни мышей не увеличивалась по сравнению с контролем. Напротив, по отношению к контрольным мышам, овариоэктомированным в возрасте 11 мес., оставшаяся продолжительность жизни только незначительно увеличивалась у мышей, которым яичники трансплантировали в возрасте 5 или 8 мес. Следует заметить, что у мышей линии СВА в возрасте 11 месяцев обычно уже прекращается овуляторная функция яичников, тогда как пересадка в этом возрасте яичников увеличивает продолжительность жизни мышей. Что особенно важно, реципиенты, которым в 11-месячном возрасте пересаживали яичники 3-недельных мышей, сохраняли циклическую, хотя и не в полной мере сохраненную, эстральную функцию еще в течение длительного времени, почти на 200 дней превысив срок прекращения эстральных циклов у наиболее долго циклировавшей самки из контрольной группы. Таким образом, в этом опыте яичники молодых половозрелых самок увеличивали как репродуктивную, так и соматическую продолжительность жизни мышей-реципиентов. Авторы предполагают, что молодые яичники оказывают защитное действие на организм, особенно когда пересажены старым мышам. Однако механизм этого защитного эффекта остается неясным. Можно предположить, что овариоэктомия в 3-недельном возрасте увеличивает чувствительность гипоталамо-гипофизарной системы к эстрогенам пропорционально времени после операции. Поэтому, трансплантация яичников в 11-месячном возрасте более эффективно восстанавливает гомеостатическую регуляцию репродуктивной системы и, соответственно, эстральную функцию, чем при трансплантации яичников в возрасте 5 или 8 мес. Следует заметить, что определенную роль в этом может сыграть восстановление нормальных взаимоотношений между гормонами яичника (эстрогенами и прогестероном) и инсулиноподобным фактором роста-1 (IGF-1) (Etgen et al., 2006; Mendez et al., 2006), несомненное участие которого в долголетию убедительно продемонстрировано в многочисленных исследованиях (см. ниже раздел 7.4).

#### **7.1.4. Последствия возрастного выключения репродуктивной функции**

Наиболее распространенными последствиями менопаузы являются дисбаланс вегетативной нервной системы, психологические изменения и физиологические изменения органов-мишеней из-за перестройки обмена веществ. Изменения в эстрогенозависимых органах относятся к наиболее ха-

рактным проявлениям менопаузы. Кожа наружных половых органов и эпителий влагалища подвергаются атрофии. Содержание гликогена, как правило, снижается с последующим уменьшением числа лактобацилл, увеличением вагинальной рН и усилением роста патогенных микроорганизмов. В связи с уменьшением уровня эстрогенов атрофируются матка и маточные трубы. В яичниках в ответ на изменение гормонального статуса образуются фолликулярные кисты и атретические тела. Происходит гиперплазия текатки, а затем фиброз этих тканей, который, кроме того, может поражать мочевой пузырь и уретру, приводя к увеличению случаев цистита, дизурии и неинфекционного уретрита. Истончение кожи также является результатом снижения уровня эстрогенов (Смирнова и др., 2004).

Менопауза оказывает выраженное влияние на состояние сердечно-сосудистой и опорно-двигательной систем. Снижение секреции эстрогенов снижает защитные свойства этих гормонов в отношении коронарной болезни сердца, развития атеросклероза и сопутствующих изменений липидного обмена. Остеопороз, возникающий из-за увеличения интенсивности реабсорбции костной ткани в сравнении с процессами образования кости, — общая проблема женщин в период менопаузы (Riggs, 1987). Можно выделить два типа остеопороза. Тип I связан с расходом эстрогенов и может начинаться в среднем возрасте (Riggs, 1987). Биологические эффекты объясняются разобщением сложных связей между захватом кальция и его потерей, а также секрецией кальцитонина, гормона паращитовидной железы и 1.25-дигидроксид-витамина Д. Эстрогены препятствуют переходу кальция из костей в кровь и его экскрецию с мочой. Это индуцирует секрецию гормона паращитовидной железы, который стимулирует образование 1.25-дигидроксид-кальциферола, активного метаболита витамина Д. С увеличением возраста нарушается функция паращитовидной железы. Роль эстрогена в утрате костной ткани подтверждается эффективностью заместительной эстрогенотерапии, замедлением процесса остеопороза у женщин после наступления менопаузы. С возрастом может также развиваться тип II остеопороза (сенильный остеопороз), который, возможно, связан со слабой абсорбцией кальция в тонком кишечнике (Riggs, 1987).

### 7.1.5. Старение репродуктивной функции у мужчин

При старении репродуктивная система мужчин страдает меньше, чем у женщин. Это обычно связывают с тем, что уровни тестостерона сохраняются в пределах физиологической нормы в течение всей жизни, хотя в старости может снижаться продукция тестостерона в ответ на действие гонадотропина, что обусловлено сокращением числа и ослаблением функции клеток Лейдига (Dilman, 1994). Половой аппарат не претерпевает заметных изменений с возрастом, а сперматозоиды обнаруживаются в эякуляте даже очень старых мужчин. Объем семенной жидкости обычно снижается.

В то время как у большинства старых людей наблюдается инволюция предстательной железы, примерно у 1/3 мужчин развивается гипертрофия простаты с последующей обструкцией уретры и затрудненным мочеиспусканием. Причина гипертрофии еще неясна. Увеличение простаты приводит к компенсаторной гипертрофии мочевого пузыря. Если такая компенсация недостаточна, развивается ретроградное заполнение почечной лоханки и мочеточников, что приводит к гидронефрозу и в конечном счете к почечной недостаточности.

## 7.2. СТРЕСС, АДАПТАЦИЯ И СТАРЕНИЕ

Когда огромный мир противоречий  
Насытится бесплодной игрой, —  
Как бы прообраз боли человеческой  
Из бездны вод встает передо мной.

*Николай Заболоцкий*

Индивидуальное старение организма может пониматься как возрастное снижение его устойчивости к стрессовым воздействиям, в то время как смертность характеризует шансы его гибели (Тодоров, Тодоров, 2003; Геронтология *in silico*., 2007; Яшин и др., 2007). Процесс адаптации к различным повреждающим факторам, которые в общей форме можно обозначить как стрессоры, в организме осуществляется на всех уровнях интеграции — от молекулярного и клеточного до системного. Но ключевую роль в реализации адаптационных процессов в организме играет система гипоталамус—гипофиз—надпочечники (Selye, 1973), гомеостатическая регуляция основных ее компонентов (кортикотропин-высвобождающий гормон, АКТГ, глюкокортикоиды).

У позвоночных способность организма отвечать на различные психические и физические воздействия сходным образом — выбрасывая в кровь адреналин, вырабатываемый клетками мозгового слоя надпочечников, — была отмечена еще в 1914 г. У. Кенноном (Cannon, 1914). Адреналин повышает в крови концентрацию глюкозы, увеличивает работоспособность мышц, вызывает приток крови к жизненно важным органам — сердцу, головному мозгу, легким, скелетным мышцам. Ганс Селье установил, что при воздействии самых различных внешних раздражителей организм реагирует сходным образом (Selye, 1946). Селье ввел термин «стресс» в биологию и медицину, охарактеризовал общую неспецифическую реакцию организма на действие раздражителей как «общий адаптационный синдром» (Selye, 1952). Центральным положением концепции стресса Селье является неспецифический характер связи между природой стрессорного агента (воздействия) и характером стрессорной реакции. Согласно концепции, выдвинутой Г. Селье, каждый фактор внешней среды, тем или иным способом нарушая гомеостаз, вызывает вполне определенный набор реакций организма, вклю-



Таблица 7.1

Величина подавления уровня кортизола в крови в «коротком» дексаметазоновом тесте у здоровых лиц разного возраста, больных атеросклерозом, психической депрессией и раком (Дильман, 1987; с изменениями)

Группа	Число наблюдений	Средний возраст, годы	Подавление, %	Процент дексаметазон-резистентных лиц
Здоровые лица, лет:				
21—30	26	25 ± 0.4	67	0
31—40	28	37 ± 0.4	65	11
41—50	34	44 ± 0.4	64	18*
51—60	13	54 ± 0.8	56	23*
Атеросклероз	25	51 ± 1.0	31	64**
Депрессия	52	43 ± 1.8	19**	69**
Рак тела матки	57	56 ± 0.6	37	67**
Рак желудка	36	52 ± 2.0	39	61**
Рак прямой кишки	55	56 ± 2.1	38	60**
Рак простаты	75	68 ± 3.4	35	55**

Примечание. \* — различие статистически достоверно по сравнению с контрольной группой в возрасте 21—30 лет; \*\* — то же по сравнению с соответствующей по возрасту контрольной группой.

чающий изменения активности коры надпочечников, инволюцию тимуса и т. д.

Гормонам коры надпочечников — глюкокортикоидам, непосредственно контролирующим скорость клеточной пролиферации и апоптоза в различных тканях организма, принадлежит ключевая роль в гомеостазе гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса. В экспериментах на лабораторных крысах и в клинических наблюдениях установлено, что по мере увеличения возраста способность дексаметазона снижать уровень глюкокортикоидов в крови уменьшается (табл. 7.1), что свидетельствует о том, что при старении развивается резистентность кортикотропина к ингибирующему влиянию глюкокортикоидов (Дильман, 1987; Revskoy, Redei, 2000).

Указанный процесс приводит к нарушению гомеостатического контроля функции кортикотрофов гипофиза, к чрезмерной стимуляции надпочечников, увеличению уровня глюкокортикоидов в крови и, как следствие, к дегенеративным изменениям во внегипофизарных тканях. Этот механизм лежит в основе таких заболеваний, как синдром Кушинга, эндогенная депрессия, и ряда нейродегенеративных болезней. Возрастные изменения в адапционном гомеостазе, по мнению В. М. Дильмана (1987), формируют болезнь регуляции (гомеостаза), которую он назвал гипердаптозом, специфическим признаком которого является избыточный ответ адапционной системы на стресс. С этой точки зрения повышающаяся по мере старения

уязвимость организма к действию неблагоприятных факторов окружающей среды может быть обусловлена избыточной (и поэтому повреждающей) стрессорной реакцией. Подчеркивается, что ослабление способности к адаптации с возрастом в значительной мере связано с избыточностью реакции адаптационной системы на стресс. Другими словами, старея, индивидуум начинает жить как бы в условиях хронического стресса, и поэтому становится все более уязвимым и беззащитным по отношению к реальному стрессу (Дильман, 1987).

В механизме гиперапоптоза ключевую роль играют возрастное снижение уровня биогенных аминов в гипоталамусе, а также снижение числа рецепторов глюкокортикоидов. Установлена также важная роль в этом процессе антионкогена *bcl-2*, в норме защищающего клетку от индуцируемого глюкокортикоидами апоптоза (Ревской, 2001). Данные о способности *bcl-2* модулировать степень подавления системы проопиомеланокортин (ПОМК)/АКТГ глюкокортикоидами представляет собой новый уровень взаимоотношений между *bcl-2* и системой отрицательной обратной связи в адаптационном гормональном гомеостазе. Подчеркивается, что поскольку *bcl-2* опосредует влияние многих факторов окружающей среды, вызывающих генотоксический стресс в клетках, этот ген может рассматриваться как связующее звено между генотоксическим стрессом и нарушением регуляции обратной связи в системе ПОМК/АКТГ—глюкокортикоиды (Revskoу, Redei, 2000; Ревской, 2001). Важно отметить, что экспрессия *bcl-2* в гипофизе с возрастом не увеличивается, что не исключает ее избыточной экспрессии под влиянием генотоксических агентов. При этом в клетках, стареющих *in vitro*, наблюдали резистентность *bcl-2* к факторам, понижающим его уровень (Wang, 1997), что можно рассматривать как относительное повышение активности этого супрессорного гена. Следовательно, в процессе старения и развития заболеваний, ассоциированных с возрастом, важную роль может играть не базальный уровень экспрессии *bcl-2*, а уровень, индуцируемый факторами окружающей среды. Этот аспект находит свое подтверждение в механизмах канцерогенного старения (см. главу 11).

А. И. Яшин и С. В. Украинцева (2004) рассматривают индивидуальное старение организма как возрастное снижение его устойчивости к стрессовым воздействиям, тогда как смертность характеризует шансы его гибели. По их мнению, в организме существует три главных эшелона защиты от стресса:

- первый несет ответственность за восприимчивость организма к стрессу (т. е. обеспечивает робастность — от англ. *robust* — крепкий, здоровый);
- второй характеризует его способность быстро восстанавливать минимально необходимые функции (т. е. отвечает за скорость восстановления);
- третий обеспечивает полноту и качество восстановления до исходного, дострессового состояния путем репарации поврежденных систем и молекул, а также компенсации их функций.

При старении наблюдается снижение устойчивости организма к стрессу, что может проявляться увеличением его уязвимости к малым стрессам

или снижением робастности, например он повреждается от воздействий, ранее не оказывавших эффекта, таких как изменение характера питания. При старении происходит снижение способности восстанавливаться до первоначального состояния, в котором он находился до воздействия стрессора. Некоторые из воздействий, после которых организм в молодом возрасте полностью восстанавливается, в старости не компенсируются даже по прошествии долгого времени, и могут привести к возникновению хронической патологии или даже оказаться летальными (Яшин, Украинцева, 2004). При пониженной робастности или повышенной стрессовой нагрузке, действующей достаточно длительное время, такой стресс вызывает напряженную работу адаптивных механизмов, стремящихся обеспечить функционирование организма в новых условиях, ликвидировать отклонение показателей системы от их значений, наблюдаемых при отсутствии стресса. В результате накапливаются побочные эффекты такой хронической адаптации, получившей название «аллостатической нагрузки» (Яшин, Украинцева, 2004).

Накопление побочных эффектов может привести к развитию патологии. Снижение стрессоустойчивости организма в результате старения приводит к накоплению побочных эффектов адаптации и возникновению хронических заболеваний. Таким образом, один из механизмов, связывающий старение и здоровье, связан с действием стрессовых факторов на организм. В частности, последние исследования (Михальский, Яшин, 2004) показали, что среди женщин старше 65 лет процент лиц с ослабленным здоровьем выше, чем среди мужчин того же возраста. Принимая во внимание, что женщины живут дольше мужчин, можно сделать предположение о разных адаптационных стратегиях защиты организма. Стратегия женского организма заключается в защите жизни ценой частичной потери здоровья, а стратегия мужского организма заключается в защите здоровья даже ценой потери жизни. Количественные аспекты связи старения и здоровья требуют дополнительного исследования с помощью соответствующих математических и компьютерных моделей. Выяснение биологических механизмов реализации этих стратегий позволит повысить эффективность мер по сохранению здоровья в пожилом возрасте, увеличивая продолжительность здоровой и активной жизни человека.

Малые дозы стрессовых нагрузок могут приводить к малым повреждениям в организме или не создавать их вовсе. В то же время такие нагрузки могут играть важную сигнальную роль (Яшин и др., 2007). Так, в экспериментах с червями *C. elegans* непродолжительное нагревание в начале жизни увеличивает среднюю продолжительность жизни на 10 %, не причиняя организму вреда (Michalski et al., 2001; Yashin et al., 2002). Такие малые дозы могут играть роль сигналов, активируя резервы организма в масштабах, превышающих возникшие повреждения, и увеличивая его устойчивость к последующим стрессам. В результате организм с активированными таким образом механизмами защиты оказывается способным сформировать более адекватный отклик на сильный стресс, чем организм без предварительной активации. Это приводит к эффекту гормезиса, характеризующегося отно-

сительным увеличением индивидуальной сопротивляемости большему стрессу в результате малого стимула. Яркий пример «поставленного на поток» гормезиса в человеческом обществе — это вакцинации против опасных инфекций, когда малая доза антигена формирует защитную реакцию против опасного уровня экспозиции к тому же антигену в организме. Частые (но не чрезмерные) стрессовые воздействия могут стимулировать развитие «инфраструктуры», обеспечивающей надежную защиту путем формирования более мощного отклика на стрессовый сигнал. Биологические механизмы, вовлеченные в указанные процессы, требуют более детального изучения.

### 7.3. ГОРМЕЗИС И СТАРЕНИЕ

В одной ученой мысли ловкой  
Открылась мне блаженства бездна:  
Спиртное малой дозировкой —  
В любых количествах полезно.

*Игорь Губерман*

Термин «гормезис» (hormesis) был предложен для обозначения стимулирующего (благоприятного) эффекта малых доз (меньших, чем токсические) любых токсических веществ на организм (Southam, Ehlich, 1943). Гормезис наблюдался у разных видов живых организмов (от дрожжей и бактерий до млекопитающих) в ответ на самые различные химические агенты, а также при воздействии ультрафиолетовой или ионизирующей радиации, слабого электрического, теплового или низкотемпературного шока, на физические упражнения, перенаселенность, ограничение калорийности питания, гипергравитацию и т. п. Термин гормезис применим к разнообразным ответным реакциям, проявляющимся в улучшении состояния здоровья, заживляемости ран, устойчивости к инфекционным заболеваниям, радиации, улучшении фертильности, иммунитета и выживаемости (Luckey, 1980; Calabrese et al., 2001; Sacher, 1977; Neafsey, 1990; Rattan, 2004).

Значительное число работ посвящено гормезису долголетия. Стрессорными факторами, воздействие которых может приводить к увеличению продолжительности жизни, являются высокая температура (тепловой шок), ультрафиолетовая и ионизирующая радиации, тяжелые металлы, алкоголь, физическая нагрузка, ограниченная калорийно диета, различные ксенобиотики, включая как токсические агенты, так и лекарственные вещества (Neafsey, 1990; Calabrese, Baldwin, 2001; Masoro, 2000; Minois, 2000; Rattan, 2006). Предлагается даже использовать анализ продолжительности жизни как инструмент для обнаружения горметических эффектов у лабораторных животных (Sacher, 1977). L. Hayflick (2004) особо подчеркнул, что гормезис влияет не на процесс старения, а на детерминанты долголетия.

Сходный с горметическим эффект наблюдается при хроническом, но мягком недоедании у человека. Так, оказалось, что лимфоциты периферической крови людей с низким индексом массы тела имеют более высокую активность репарации ДНК и высокую активность ДНК полимеразы  $\beta$ , длительно сохраняющиеся при старении, по сравнению с лицами с обычным индексом массы тела (Raji et al., 1998). Используя мягкий стресс (нагревание до 41 °С в течение 1 часа 2 раза в неделю), удалось продлить репликативную жизнь серийно культивируемых фибробластов человека (Verbeke et al., 2001).

Способность адаптироваться к стрессорному воздействию рассматривается как эволюционный процесс (Hoffman, Parsons, 1991). В пользу эволюции стресса, по мнению авторов, свидетельствуют многочисленные примеры развития межвидовой устойчивости к воздействиям и различия в стрессоустойчивости в зависимости от географических, климатических условий обитания для различных популяций в пределах одного вида. В ряде исследований показано, что индивидуумы, отобранные по принципу устойчивости к одному виду стрессорного воздействия, часто оказываются резистентными и к другим воздействиям (Hoffman, Parsons, 1989).

Имеется достаточно большое число наблюдений, свидетельствующих о том, что стрессоустойчивость и долгожительство хорошо коррелируют, т. е. долгоживущие виды более устойчивы к разнообразным стрессорам. Генетически модифицированные *C. elegans* с мутациями, увеличивающими продолжительность жизни (*age-1*, *daf-2* или *spe-26*), оказались более резистентны к стрессу, вызванному нагреванием или ультрафиолетовым облучением (Lithgow, Kirkwood, 1966; Johnson et al., 2000). Трансгенные дрозофилы, несущие дополнительные копии генов каталазы и супероксиддисмутазы, устойчивы к различным стрессорам, а мухи с мутацией *mth* резистентны к параквату, голоду и высокой температуре (Lin et al., 1998; Parkes et al., 1998; Sun, Tower, 1999).

Однако механизмы, которыми легкий стресс увеличивает продолжительность жизни, до сих пор неизвестны. Полагают, что гормезис обусловлен прямым или косвенным (опосредованным мембранными, рецепторными или генетическими механизмами) воздействием стрессорных агентов на регуляцию метаболических процессов (Lin et al., 1998; Lithgow, Kirkwood, 1996; Murakami, Johnson, 2001). В последние годы получила развитие гипотеза об участии белков теплового шока (Hsp70) в механизмах стрессоустойчивости и гормезиса долгожительства (Matz et al., 1996). Эти белки, вырабатываемые не только при нагревании, но и при охлаждении, физической нагрузке и воздействии других агентов, защищают клетки во время стресса и устраняют вызываемые им клеточные повреждения. Будучи эволюционно весьма консервативными, белки теплового шока гомологичны у многих видов животных. Полагают, что эти белки принимают участие в репарации клеточных повреждений (Rattan, 2006). Гены, кодирующие синтез белков теплового шока при стрессе, также участвуют в регуляции процесса старения (Lithgow, Kirkwood, 1996).

Применение методов математического моделирования оказалось весьма продуктивным при анализе взаимоотношений в организме при старении и стрессе (Semenchenko et al., 2004; Геронтология *in silico*..., 2007). Было показано, что наклон логарифма кривой смертности может меняться как в результате стрессовых воздействий, так и в результате изменения стратегий защиты от стресса. Кроме того, этот наклон зависит от распределения индивидуальных характеристик уязвимости индивидуумов по отношению к факторам внешней среды (Yashin et al., 2002; Semenchenko et al., 2004; Геронтология *in silico*..., 2007).

Среди медиков и геронтологов растет понимание того, что снижение сопротивляемости организма стрессовым воздействиям является универсальным и наиболее важным с точки зрения заболеваемости и смертности проявлением старения. Это снижение имеет три главных фенотипических проявления согласно трем перечисленным выше стратегиям защиты от стресса в организме: (а) организм становится более уязвим к малым стрессам (например, повреждается от воздействий, ранее не оказывавших эффекта, таких как изменения в питании); (б) организм после той же самой нагрузки медленнее восстанавливается до функциональной нормы; (в) некоторые из воздействий, после которых молодой организм полностью восстанавливается, в старости не компенсируются совсем, даже по прошествии долгого времени, и могут привести к возникновению хронической патологии или даже оказаться фатальными. Количественный анализ механизмов стрессоустойчивости и ее снижения с возрастом может быть проведен методами математического моделирования (Геронтология *in silico*..., 2007).

А. В. Семенченко предложила полупараметрическую модель, дающую возможность оценить влияние внешнего воздействия одновременно на базовый риск смерти и на распределение уязвимости в популяции (Semenchenko et al., 2004). Эта модель позволяет, оценив меру гетерогенности контрольной группы животных, оценить базовый риск смерти и соответствующую ему функцию дожития. Изменения в распределении уязвимости в популяциях лабораторных животных впервые были исследованы при помощи модели дискретных классов уязвимости (Yashin et al., 2002). Модель основана на предположении о неоднородности популяции, а именно на том, что она состоит из трех субпопуляций индивидуумов: слабых, нормальных и сильных. Под действием стрессора принадлежность особи к тому или иному классу может изменяться. При пагубном влиянии сильные индивидуумы становятся нормальными, нормальные слабыми, а слабые погибают. Эффект гормезиса обусловлен тем, что слабые животные под влиянием стрессора могут окрепнуть и перейти в категорию нормальных, а нормальные могут стать сильными. Подчеркивается, что часто наблюдаемый эффект неполного гормезиса, при котором происходит пересечение кривых дожития, обусловлен тем, что некоторые особи из категории нормальных могут стать слабыми, в то время как другие пополняют субпопуляцию сильных (Semenchenko et al., 2004). Эта идея легла в основу изменений распределения уязвимости популяции под влиянием стрессора, включенных в полупара-

Таблица 7.2

**Влияние введений физиологического раствора (ФР) хлористого натрия на продолжительность жизни самок мышей HER-2/neu (Semenchko et al., 2004)**

Показатели	Интактный контроль	ФР, курсовое введение	ФР, постоянное введение
Количество мышей	30	29	24
Продолжительность жизни, сут:			
средняя	281 ± 8.1	309 ± 10.4*	289 ± 9.3
минимальная	223	224	190
максимальная	391	431	360
последних 10 % мышей	372 ± 11.6	406 ± 12.7*	350 ± 10.0**
p	—	0.023	0.606
Оценки параметров полупараметрической модели смертности:			
$\alpha \times 10^{-3}$		0.31 (0.28; 0.32)#	4.2 (3.9; 4.6)
$\beta \times 10^{-3}$		1.4 (1.3; 1.5)	31 (28; 35)
$r \times 10^{-1}$		3.5 (2.9; 4.1)	0.6 (0.4; 0.8)
$\gamma$		0.93 (0.92; 0.94)	1.01 (1.01; 1.02)
$\sigma^2$		0.39 (0.37; 0.41) для всех групп	

Примечание. p — достоверность различий в выживаемости по сравнению с интактным контролем (лог-ранк тест); \* — достоверное увеличение по сравнению с интактным контролем ( $p < 0.01$ ), \*\* — достоверное уменьшение по сравнению с интактным контролем ( $p < 0.01$ ). # — в скобках 95 % доверительные интервалы.

метрическую модель смертности в гетерогенных популяциях. Есть основания полагать, что замена дискретных классов непрерывным распределением уязвимости является более реалистичной.

В табл. 7.2 представлены данные о продолжительности жизни мышей, несущих ген рака молочной железы HER-2/neu, которым начиная с возраста 2 месяцев, курсами по 5 дней ежемесячно или постоянно вводили подкожно 0.2 мл физиологического (0.9 %) раствора хлористого натрия. Контролем служили интактные мыши (Semenchenko et al., 2004). В таблице приведены также численные значения параметров уязвимости и базового риска смертности, полученные при компьютерном моделировании полученных данных в соответствии с полупараметрической моделью смертности в гетерогенной популяции.

Параметр  $\sigma^2 \neq 0$  характеризует скрытую гетерогенность контрольной группы. Параметр  $\alpha$  указывает на увеличение или уменьшение базового риска смерти, в зависимости от того  $\alpha > 0$  или  $\alpha < 0$  соответственно. Параметр  $\beta$  характеризует усиление или ослабление изменений базового риска смерти с возрастом, в соответствии с тем, больше или меньше нуля его значение. Параметр  $r > 0$  указывает на изменение среднего значения распределения уязвимости подопытной группы по сравнению с контрольной. Если  $r < 1$ , то произошло уменьшение средней уязвимости, а если  $r > 0$ , то популяция стала в среднем более уязвима. Параметр  $\gamma > 0$  отражает увеличение ( $\gamma > 1$ ) или

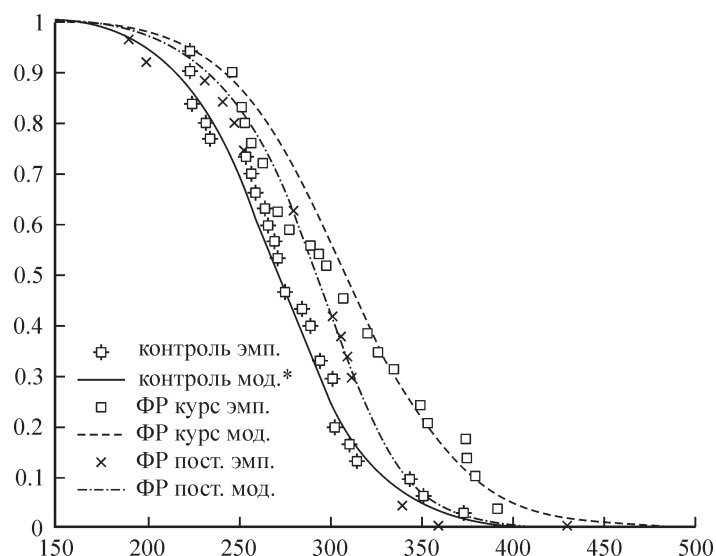


Рис. 7.4. Эмпирические и соответствующие им модельные условные функции дожития у самок мышей HER-2/псн, подвергшихся воздействию физиологического раствора (ФР) хлористого натрия (Semenchenko et al., 2004).

По оси абсцисс — возраст, сут.; по оси ординат — функция дожития. \* — функция дожития в контрольной группе приближена моделью гамма-Гомпертца.

уменьшение ( $\gamma < 1$ ) дисперсии уязвимости, что характеризует уменьшение или увеличение гетерогенности популяции (Semenchenko et al., 2004).

Расчеты показали, что курсовое введение мышам физиологического раствора хлористого натрия (ФР) оказало горметический эффект на долгожительность мышей (табл. 7.2, рис. 7.4). Этот эффект обусловлен уменьшением средней уязвимости. При постоянном введении ФР благоприятный эффект нивелируется — распределение продолжительности жизни в подопытной и контрольной группах одинаковы, хотя «хвост» распределения в группе постоянного введения ФР статистически достоверно короче, чем в контрольной группе. Этот феномен обусловлен сильным, растущим с возрастом, увеличением базового риска смерти. Эффект гормезиса долгожительности, наблюдавшийся при курсовом введении ФР, и отсутствие его при постоянном введении соответствует описанному в литературе положительному влиянию малых доз стрессорных воздействий (Minois, 2000).

Чтобы избежать разрушительных последствий воздействия стресса, организм может проявлять гибкость, используя различные стратегии и комбинируя методы защиты. Одна из них связана с изменением робастности (устойчивости) организма. При высокой робастности только стрессовые воздействия большой амплитуды могут проникнуть в организм и произвести разрушения. Другая компонента связана с полнотой ликвидации и компенсации последствий стресса. Качество систем обезвреживания чужеродных агентов, проведения репарации и компенсации неустраняемых дефектов



в клетке играют важную роль в предотвращении последующего развития хронической патологии. Наконец, способность к *быстрому* восстановлению (т. е. скорость защитных реакций) может быть определяющей в способности организма выжить сразу после воздействия стресса. В зависимости от природы стресса та или иная комбинация этих стратегий защиты оказывается наиболее предпочтительной (Yashin et al., 2001; Михальский и др., 2007).

В добавление к внешним стрессовым воздействиям некоторые собственные молекулы организма постоянно производят внутренние стрессы, например вследствие окислительных процессов. Они связаны с постоянным присутствием в организме свободных радикалов — побочных продуктов производства энергии, функционирования иммунной системы, а также химически активных молекул, играющих важную роль в сигнальной системе организма (Скулачев, 1997). Свободные радикалы способны повреждать белки, ДНК и другие важные биомолекулы организма. Наличие потенциала регенерации, адекватного этим повреждениям, поддерживает всю систему в работающем состоянии. Недостаточная их компенсация и неполное устранение приводит к ускоренному старению организма (Анисимов, 2003; Terman, Brunk, 2006). Ресурс, распределяемый на адаптивную компоненту защиты от внешнего стресса, может быть частично использован для устранения окислительных повреждений, а следовательно для замедления процесса старения. Таким образом, внешний стресс способен как ускорять, так и замедлять старение. Результат зависит от того, какая комбинация стратегий защиты соответствует природе конкретного стресса. Математическая модель распределения ресурсов, минимизирующая последствия стрессовых воздействий на организм выбором подходящей комбинации стратегий, позволила бы лучше понять роль стресса в старении и развитии хронических заболеваний.

Реакция организма на стресс может сопровождаться неблагоприятными изменениями межклеточной среды, например недостаточным питанием и потреблением кислорода. Нехватка питания или кислорода может повредить клетку и даже дать сигнал к ее самоуничтожению (апоптозу). Уменьшение числа соматических клеток стимулирует деление и последующую дифференцировку стволовых клеток (при наличии таковых), с целью замещения утраченных. В результате увеличивается пропорция молодых, нормально функционирующих клеток. В этом случае стресс способствует обновлению органов и тканей. «Гормезис долголетия» может быть результатом такой реакции. То есть в пролиферирующей ткани решающую роль для старения всего организма скорее всего играет не накопление повреждений в отдельных клетках, а адекватность механизма замены поврежденных клеток на новые, которая в значительной мере определяется балансом между скоростями апоптоза и производства новых клеток (Геронтология *in silico*..., 2007).

В то же время апоптоз клеток в тканях, в которых функционирование стволовых клеток ослаблено (или они отсутствуют вовсе), приводит к снижению возможности ткани выполнять свои функции, а следовательно к па-

тологии органа или системы, а затем и к гибели организма (Terman, Brunck, 2006).

S. Rattan (2004) отмечает, что имеется ряд проблем, решение которых будет способствовать лучшему пониманию механизмов гормезиса долгожительства и позволит практически использовать этот феномен для увеличения продолжительности жизни. К ним относятся:

- 1) установление биохимических и молекулярных критериев для определения гормональных эффектов различных стрессоров;
- 2) идентификация различий и сходства стрессорного ответа, развивающегося при воздействии различных стрессоров;
- 3) количественная характеристика величины стрессорного ответа на различные стрессы;
- 4) определение взаимодействующих и плейотропных механизмов стрессорных ответов, индуцируемых различного типа стрессорами;
- 5) коррекция уровней мягкого стресса в соответствии с возрастными изменениями реакции на стресс;
- 6) определение биологической и эволюционной «цены» повторных стрессов;
- 7) определение биологической значимости относительно малых гормональных воздействий, которые могут оказывать или не оказывать благоприятные эффекты на протяжении жизни.

Несмотря на то что имеется лишь небольшое число работ, выполненных с использованием мягкого стресса для увеличения продолжительности жизни, есть основания полагать, что гормезис может быть перспективным экспериментальным подходом в биogerонтологии и антистарении (Rattan, 2004).

#### **7.4. СИСТЕМА ГОРМОН РОСТА—ИНСУЛИНОПОДОБНЫЙ ФАКТОР РОСТА-1 (IGF-1): РОЛЬ В СТАРЕНИИ И ДОЛГОЛЕТИИ**

Одной из наиболее «горячих точек» в современной геронтологии является вопрос о роли возрастных изменений в системе гормон роста—инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1)—инсулин—глюкоза в механизме старения (Sonntag et al., 1999). Эта система эволюционно чрезвычайно консервативна, и ее строение и функция весьма сходны у дрожжей, нематод, дрозофил, мыши и человека (Kenyon, 2001; Longo, Finch, 2003; Tatar et al., 2003). Продуцируемый соматотропными клетками гипофиза гормон роста стимулирует мобилизацию жирных кислот, захват аминокислот, синтез ДНК, РНК и белков, участвует в регуляции деления клетки и тканевой гипертрофии. Показано, что секреция гормона роста происходит импульсами, интенсивность которых усиливается вскоре после начала сна и регулируется двумя гипоталамическими гормонами: высвобождающим гормоном роста (GHRH), который вызывает секрецию гормона роста гипофизом, и сома-

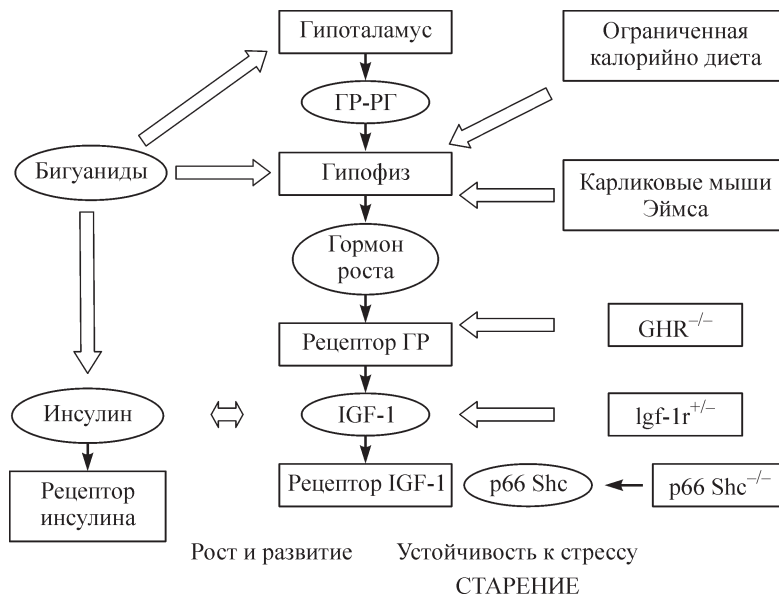


Рис. 7.5. Система регуляции гормона роста и IGF-1 (Анисимов, 2003).

тостатином, который ее угнетает. Гормон роста имеет высокий аффинитет к рецепторам, которые имеются во всех тканях организма. Активация рецепторов гормона роста в печени и в других тканях ведет к стимуляции и секреции инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1), небольшого пептида (около 7.5 кД), структурно близкого к проинсулину. Циркулируя в высокой концентрации в крови, IGF-1 стимулирует синтез ДНК, РНК и белков и пролиферацию многих тканей. Гормон роста, GHRH, соматостатин и IGF-1 находятся в гомеостатических отношениях, функционирующих по принципу обратной связи (рис. 7.5).

С возрастом ночной пик секреции гормона роста снижается как у человека, так и у лабораторных грызунов, сопровождаясь снижением концентрации IGF-1 в плазме крови. Полагают, что возрастное снижение секреции гормона роста обусловлено снижением ответа гипофиза на действие GHRH, продукция которого в свою очередь также уменьшается. Однако имеются также убедительные доказательства, свидетельствующие о том, что возрастное увеличение тонической продукции соматостатина является важным фактором в снижении секреции гормона роста при старении (Sonntag et al., 1999). Кроме того, чувствительность нейронов гипоталамуса, продуцирующих GHRH, к гомеостатическому действию гормона роста также снижается с возрастом. Следует заметить, что старение гипоталамуса затрагивает и такой важный регуляторный механизм, как контроль потребления пищи, т. е. центры аппетита и насыщения, находящиеся в гомеостатических отношениях с другими компонентами системы регуляции энергии в организме (Дильман, 1987; Schwartz et al., 2000).

Важным звеном в возрастных нарушениях функции этой системы является уменьшение индуцируемой гормоном роста продукции IGF-1, что может быть дополнительным фактором, определяющим низкий уровень этого фактора в плазме крови и тканях в старческом возрасте. У старых крыс отмечено двукратное увеличение концентрации рецепторов к гормону роста в тканях, что, однако, не компенсирует возрастное снижение секреции этого гормона. Установлено также, что с возрастом размеры и константа  $K_D$  не изменяются, а способность гормона роста индуцировать экспрессию гена IGF-1 существенно снижается. Таким образом, и у человека, и у лабораторных животных с возрастом развиваются нарушения в системе передачи сигнала рецептора гормона роста, приводящие к снижению секреции IGF-1 (Sonntag et al., 1999). Вместе с тем имеются данные, что итальянские столетние имеют исключительно низкий уровень IGF-1 в крови (Barbieri et al., 2003). Анализ аллельного полиморфизма генов, контролирующих различные компоненты системы передачи сигнала (*GHRHR*, *GHI*, *IGF1*, *INS*, *IRS1*) показал, что у женщин-носителей аллеля *GHI* SNP в среднем на 2 см меньше рост и на 20 % снижен риск смерти по сравнению с носительницами аллеля дикого типа (van Heemst et al., 2005). У мужчин эта закономерность не прослеживалась.

Значительную роль в физиологических функциях клеток и тканей организма играют ростовые факторы, представляющие собой пептиды, стимулирующие или ингибирующие деление и дифференцировку различных клеток и являющиеся основными медиаторами митогенного сигнала клетки (Pollak et al., 2004; Пальцев, Кветной, 2006). В отличие от гормонов ростовые факторы, как правило, продуцируются неспецифическими клетками, находящимися во многих тканях.

Система ростовых факторов включает: 1) полипептидные ростовые факторы; 2) специфические клеточные рецепторы; 3) связывающие белки, регулирующие количество ростовых факторов, действующих на клетки-мишени (Пальцев, Кветной, 2006). Факторы роста могут оказывать действие различными путями: 1) аутокринным — путем воздействия на клетки, являющиеся непосредственным источником ростовых факторов; 2) паракринным — путем воздействия на клетки, расположенные вблизи клеток продуцентов; 3) интракринным — факторы роста остаются внутри клетки и действуют непосредственно как внутриклеточные мессенджеры; 4) эндокринным — воздействие на удаленные клетки — мишени (Пальцев, Кветной, 2006).

У мышей IGF-1 необходим для соответствующего внутриутробного и постнатального роста. В течение взрослой жизни, однако, уровень IGF-1 уменьшается. У итальянских столетних уровень IGF-1 в сыворотке крови исключительно низкий (Barbieri et al., 2003). Эти данные соответствуют представлениям о том, что низкий уровень IGF-1 во время взрослой жизни способствует долголетию нематод, мух и мышей (Leroi et al., 2005). Один из механизмов, которым IGF-1 может увеличивать продолжительность жизни, состоит в его роли как митогена. Имеется довольно много доказательств того, что избыток IGF-1 увеличивает риск развития рака. Например, у лю-

дей с мутацией в гене опухолевого супрессора PTEN, контролирующего IGF-зависимую киназу PI3, с большой частотой развиваются различные новообразования (Leroi et al., 2005). Соответственно собаки крупных пород, дети с очень большим ростом и больные акромегалией имеют высокий уровень IGF-1 и высокий риск рака (Leroi, 2003).

Последствия низкого уровня IGF-1 не столь очевидны. Имеются указания, что низкий уровень IGF-1 увеличивает уязвимость (frailty), мышечную слабость и хрупкость костей. Если это так, то низкий уровень IGF-1 в молодом возрасте может иметь неблагоприятные последствия, увеличивая вероятность переломов костей в пожилом возрасте, но в конечном счете благоприятный эффект у очень старых (Barbieri et al., 2003).

IGF-1 представляет собой полипептид, имеющий в составе около 70 аминокислот, обладающий инсулиноподобной активностью и играющий основную роль в клеточной пролиферации, подавлении апоптоза (программируемой гибели клеток), а также дифференцировке многих клеток человеческого организма. Комбинация этих митогенных и антиапоптотических эффектов ведет к созданию условий для опухолевого роста (Pollak et al., 2004). Следует подчеркнуть, что IGF-1 является эндокринным, аутокринным и паракринным стимулятором митогенеза и, как следствие, отдельных этапов канцерогенеза. Он рассматривается как фактор «прогрессии» или фактор прохождения по клеточному циклу. Его присутствие необходимо клеткам в G1-фазе (интервал до синтеза ДНК), а также для вступления клеток в S-фазу (синтез ДНК). Функции IGF шире, чем роль только звена в передаче ростового сигнала, что подтверждается также тем обстоятельством, что оба IGF экспрессируются практически во всех известных тканях. Оказывая выраженное анаболическое действие на метаболизм белков и углеводов, IGF-1 увеличивает усвоение клетками аминокислот и глюкозы, стимулирует синтез белков и гликогена. У детей IGF-1 ускоряет рост костной ткани и развитие таких органов, как сердце, печень, почки. Основным стимулирующим фактором синтеза IGF-1 в печени является гормон роста.

Для каждого инсулиноподобного фактора роста имеется свой тип рецептора, входящий в митогенную сигнальную систему. Для IGF-1 таким рецептором является sIGF-1R, который относится к семейству трансмембранных тирозин-киназных рецепторов и на 70 % гомологичен рецептору инсулина. Локализуясь на плазматической мембране (внешней) мембране клетки, IGF-1R включает в себя гетеротетраметрическую структуру с двумя  $\alpha$ - и двумя  $\beta$ -субъединицами, соединенными дисульфидными мостиками. Рецептор способен узнавать не только IGF-1, но также IGF-2 и в меньшей степени — инсулин. Одна из важнейших функций IGF-1R с точки зрения клеточного роста — это защита клетки от программируемой гибели, так как при его отсутствии опухолевые клетки могут подвергаться апоптозу (Rubin, Baserga, 1995).

Основным местом продукции IGF-1 является печень. Продукция усиливается при повышении уровня соматотропного гормона (гормона роста). IGF-1 опосредует рост-стимулирующее действие гормона роста и, таким

образом, является типичным гормоном. Кроме того, IGF-1 играет важнейшую роль в аутокринной и паракринной регуляции разных функций клеток. IGF-1 и рецепторы IGF-1 обнаружены во многих тканях. Как IGF-1, так и IGF-2 связываются с рецепторами IGF-1, с рецепторами IGF-2/маннозо-6-фосфата, а также (хотя в меньшей степени) с рецепторами инсулина и активируют все перечисленные рецепторы. Рецептор IGF-1 сходен с рецептором инсулина и состоит из двух внеклеточных гормонсвязывающих  $\alpha$ -субъединиц, содержащих богатые цистеином домены, и двух трансмембранных  $\beta$ -субъединиц, содержащих тирозин-киназные домены. IGF-1 и IGF-2 присутствуют в плазме преимущественно в виде комплексов со специфическими связывающими белками. Наиболее распространен IGF-связывающий белок типа 3. Синтез этого белка с молекулярной массой 150 000, содержащего три полипептидные цепи, регулируется гормоном роста. Роль IGF-связывающих белков не до конца ясна, хотя известно, что почти все они препятствуют связыванию IGF с рецепторами и тем самым подавляют действие IGF на клетки-мишени. Связывающие белки являются третьим звеном в системе ростовых факторов в дополнение IGF-1 и IGF-1R.

О том, что связывающие белки циркулируют в плазме, известно уже более 30 лет, но только в середине 80-х годов XX столетия были клонированы гены и упорядочены шесть известных на сегодняшний день типов соответствующих белков. Оба варианта IGF обладают различным сродством к этим специальным связывающим белкам. IGF-1 циркулирует в основном в комплексе со связывающим белком-3, связывающим этот IGF, и кислотнo-лабильной субъединицей (ALS). Ее роль заключается в повышении молекулярной массы комплекса IGF-1/связывающий белок-3 (IGFBP-3) и таким образом ограничивается доступ циркулирующего IGF-1 не только во внеклеточную жидкость, но и в другие ткани. В этой своеобразной буферной системе связывающему белку-3 уделяется особое внимание, тем более что недавно этот белок был также идентифицирован как агент, стимулирующий апоптоз (Pollak et al., 2004).

В состав IGFBP-3 входят 264 аминокислоты. Этот протеин является основным связывающим белком для IGF-1 в сыворотке крови уже в ранний постнатальный период. Его уровень в крови постепенно повышается в детстве, достигая пика в пубертатном периоде. На протяжении взрослой жизни концентрация IGFBP-3 постепенно снижается. Это отчасти может быть объяснено тем, что он разрушается некоторыми сериновыми протеазами, среди которых выделяются простатоспецифический антиген, относящийся к группе калликреинов, и ингибитор 1 активатора плазминогена (урокиназы), который имеет также отношение к фибринолизу и инсулинорезистентности. Индукция IGFBP-3 реализуется под влиянием нормального, а не мутантного гена-супрессора p53 (Pollak et al., 2004). Связывая IGF-1, IGFBP-3 выполняет три основные функции: 1) доставляет IGF-1 в специфические ткани-мишени; 2) защищает IGF-1 от разрушения и 3) регулирует взаимодействие между IGF-1 и IGF-1R (Yu, Rohan, 2000). IGFBP-3 намного сильнее связывает IGF-1, чем это делает IGF-1R. Блокируя взаимодействие меж-

ду IGF-1 и IGF-1R, IGFBP-3 модифицирует биологические эффекты IGF-1 (Pollak et al., 2004). Следует отметить, что IGFBP-3 не только регулирует митогенную активность IGF-1, но также подавляет его антиапоптозный эффект.

В целом система IGF-1/ IGFBP-3 является своеобразной саморегулирующей системой, нарушение состояния которой (в частности усиление продукции IGF-1 и ослабление защитной функции IGFBP-3) может привести к повышению риска возникновения злокачественных опухолей (Pollak et al., 2004).

Сведения о генах, участвующих в метаболизме или регулирующих систему GH/IGF-1, и их роль в старении суммированы в табл. 7.3 (de Magalhães, 2005).

Были обнаружены различные генетические полиморфизмы сигнального пути IGF-1 у человека, причем с разной степенью воспроизводимости, и установлена их связь с плотностью костей, ростом и раком. По крайней мере два полиморфизма, один по гену рецептора *IGF1-R* и другой, около *PIK3CB*, который кодирует проведение сигнала IGF-1, гомологичный гену *age-1* нематоды, ассоциированы с уменьшенным уровнем IGF-1 и увеличением продолжительности жизни или «успешным старением» (Bonafe et al., 2003).

Рецептор гормона роста принадлежит к семейству цитокиновых рецепторов. Его активация способствует образованию комплекса рецептора с белком JAK2 с последующим их фосфорилированием. При этом фосфорилируются и другие внутриклеточные белки, такие как MAP-киназа, S6 киназа и белок STAT — переносчик сигнала и активатор транскрипции. Результатом активации рецептора гормона роста является также увеличение экспрессии таких генов, как *c-fos*, *c-jun*, ингибитора фосфатазы серина-1 и гена IGF-1. Было также показано, что в механизме возрастного нарушения передачи сигнала гормона роста определенную роль играет увеличение обновления рецептора гормона роста, а также точечные мутации, посттрансляционные модификации рецепторного белка и увеличение активности фосфатазы фосфотирозина (Sonntag et al., 1999). Концентрация рецепторов IGF-1 и уровня специфически связывающего его белка в тканях с возрастом не изменяется. Полагают, что паракринная экспрессия IGF-1 в старческом возрасте может быть важным механизмом поддержания нормальной функции тканей в ответ на специфические стимулы. В целом же возрастное снижение уровня IGF-1 в плазме крови может быть важным фактором в снижении пролиферативной активности тканей и соответственно в развитии ряда ассоциированных с возрастом патологических процессов. Следует отметить, что, поскольку как гормон роста, так и IGF-1 стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток сосудистой стенки, образование трубок и ангиогенез в целом, снижение их продукции с возрастом является существенным фактором развивающейся при старении сосудистой недостаточности.

Одним из важных свойств гормона роста и IGF-1 является их влияние на функцию головного мозга. Оба гормона стимулируют синтез ДНК, РНК

Таблица 7.3

Гены, участвующие в метаболизме или регулирующие систему GH/IGF-1, и их роль в старении (de Magalhaes, 2005, с изменениями)

Ген	Вид	Функция	Фенотип
<i>Atp-3</i>	<i>C. elegans</i>	Субъединица митохондриальной АТФ синтазы	Нарушения функции митохондрий в период развития увеличивает ПЖ
<i>Ceinsulin-1</i>	» »	Гомолог инсулина / IGF-1 млекопитающих	Разрыв увеличивает ПЖ
<i>chico</i>	<i>D. melanogaster</i>	Субстрат инсулинового рецептора	Мутация увеличивает ПЖ
<i>daf-2</i>	<i>C. elegans</i>	Инсулиновый сигнал	Мутация увеличивает ПЖ
<i>eat-2</i>	» »	Субъединица н-ацетилхолинового рецептора	Мутанты живут дольше
<i>F26E4.6</i>	» »	Компонент митохондриального комплекса IV	Повреждение митохондрий ассоциировано с увеличением ПЖ
<i>GH-1</i>	<i>H. sapiens</i>	Пролиферация тканей	Синдром Ларона, уменьшение ПЖ
<i>GHR/BR</i>	<i>M. musculus</i>	Трансмембранный рецептор гормона роста	Нокаут приводит к увеличению ПЖ
<i>GHRHR</i>	» »	Регуляция синтеза и секреции гормона роста в гипофизе	То же
<i>IGF-R1</i>	» »	Пролиферация и рост	Увеличение ПЖ у гетерозиготов
<i>IGF-R1</i>	<i>H. sapiens</i>	То же	Внутриутробная задержка роста, ментальная задержка
<i>Indy</i>	<i>D. melanogaster</i>	Неизвестна	Мутация приводит к увеличению ПЖ
<i>InR</i>	» »	Инсулиноподобный рецептор	Мутация приводит к карликовости и увеличению ПЖ
<i>Pit1</i>	<i>M. musculus</i>	Гипофизарный фактор транскрипции	Увеличение ПЖ у гомозиготов
<i>Pit1</i>	<i>H. sapiens</i>	То же	Комбинированная гипофизарная недостаточность
<i>Prop1</i>	<i>M. musculus</i>	Гипофизарная транскрипционная активация	Увеличение ПЖ у гомозиготных животных
<i>Prop1</i>	<i>H. sapiens</i>	То же	«Маленькие люди» Krk; мутации могут увеличивать ПЖ
<i>UPA</i>	<i>M. musculus</i>	Угнетает аппетит	Увеличение ПЖ у трансгенных животных



и белков в мозге, образование нейритов, пролиферацию олигодендроцитов и выживание нейронов и глии *in vitro*, усиливают образование синапсов в мышцах и способствуют репарации нервной ткани. IGF-1 участвует в регуляции кальция в мозге и экспрессии онкогена *c-fos*. Введение гормона роста увеличивало концентрацию IGF-1 в головном мозге и защищало нейроны от гибели в условиях ишемии, что свидетельствует о его способности преодолевать гемато-энцефалический барьер (Sonntag et al., 1999). Имеются убедительные доказательства избирательной стимуляции введением IGF-1 утилизации глюкозы в мозге старых крыс, а также нейротропного действия IGF-1. Так, введение его в желудочки головного мозга старых животных увеличивало утилизацию глюкозы и активность глутамата в областях мозга, связанных со способностью к обучению и памятью (Lynch et al., 2001).

Несмотря на то что введение гормона роста и IGF-1 старым животным оказывало ряд благоприятных эффектов, в частности стимулировало внутриклеточный синтез белка, когнитивные функции, толщину кожи, массу костей, иммунную функцию и рост сосудов у животных и человека, длительное их применение может представить большую опасность для организма, стимулируя развитие неопластического процесса (см. главу 15). У человека высокий уровень IGF-1 в крови является фактором риска для рака молочной железы, рака легких и предстательной железы, тогда как снижение его может быть важным в профилактике возрастной патологии (Sonntag et al., 1999). Вместе с тем при снижении уровня гормона роста или IGF-1 у человека, как это имеет место, например, при синдроме Ларона, наблюдаются уменьшение продолжительности жизни, массы мышечной и костной ткани, увеличение содержания жира в теле, гипертония, поведенческие проблемы, резистентность к инсулину и ранний атеросклероз (Longo, Finch, 2003). Увеличение смертности, которое наблюдается при дефиците гормона роста у пациентов с гипопитуитаризмом, сопровождается также отсутствием продукции АКТГ. Мутации, аналогичные мутациям *prop-1*, которые у мышей увеличивают продолжительность жизни, у человека приводят к карликовости, морщинистости кожи, снижению интеллекта, но не сокращают продолжительность жизни. При этом АКТГ продуцируется в достаточном количестве. Последнее обстоятельство позволяет предположить, что повышенная смертность при гипопитуитаризме обусловлена АКТГ, а не дефицитом гормона роста (Longo, Finch, 2003).

Синдром Ларона вызван дефектом рецептора гормона роста и клинически и биохимически напоминает дефицит гормона роста. Это заболевание характеризуется высокой концентрацией гормона роста, но очень низким уровнем IGF-1 в плазме, очень малым ростом, ожирением, нарушениями физического и психического развития. В более позднем возрасте у пациентов с синдромом Ларона развиваются гиперхолестеринемия и снижение толерантности к глюкозе (Longo, Finch, 2003). В целом дефицит гормона роста и IGF-1 у человека ассоциируется с серьезной патологией и заболеваниями. Однако нормальная продолжительность жизни у отдельных пациентов с мутациями, аналогичными тем, что приводят к увеличению продолжитель-

ности жизни у мышей, позволяет предполагать, что, снижая уровень гормона роста и IGF-1, можно увеличить продолжительность жизни у человека.

Несмотря на то что результаты экспериментов на грызунах однозначно свидетельствуют о том, что гормон роста и IGF-1 являются промоторами старения и ассоциированных с возрастом заболеваний, инъекции гормона роста широко рекомендуются как средство антистарения. Действительно, после коротких курсов терапии гормоном роста отмечают улучшение состояния и ряд положительных сдвигов в организме. Однако длительное применение препарата, приводящее у грызунов к увеличению частоты рака и почечной патологии, у человека сопровождается развитием акромегалии, рака и сердечно-сосудистых заболеваний. Даже краткосрочное введение гормона роста практически здоровым пожилым пациентам может привести к развитию у них сахарного диабета, различных патологий и повышенной смертности. Понятно, что при длительном введении гормона роста значительное повышение его и IGF-1 уровня в крови приведет к увеличению заболеваемости и смертности.

На основании представлений о едином элевационном механизме старения В. М. Дильман рассматривал и роль возрастных нарушений в метаболическом гомеостазе в развитии ожирения, предиабета и атеросклероза. Неизбежное возрастное увеличение веса тела и содержания в нем жира он считал следствием генетически запрограммированного повышения порога чувствительности гипоталамического центра насыщения к «глюкозному и инсулиновому сигналам», причем ведущее значение в развитии метаболических нарушений придавалось инсулину (Дильман, 1987; Dilman, 1994). В регуляции системы энергетического гомеостаза наряду с инсулином ключевую роль играют, по мнению В. М. Дильмана, также гормон роста, глюкоза и жирные кислоты. По данным, полученным в лаборатории В. М. Дильмана, уже в среднем возрасте у людей наблюдается снижение чувствительности системы «гипоталамус—гормон роста» к ингибированию глюкозой, что, как считалось, приводило затем к снижению чувствительности к инсулину, увеличению уровня жирных кислот, которые в свою очередь вызывали с возрастом снижение в крови уровня гормона роста. Все эти изменения, как полагал В. М. Дильман, лежат в основе развития предиабета, ожирения и условий, способствующих развитию атеросклероза.

F. S. Facchini и соавт. (2000) указывают, что гиперинсулинемия может способствовать окислительному стрессу и тем самым независимо от гипергликемии ускорять старение и формирование ассоциированных с возрастом заболеваний, таких как сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь и рак. Гиперинсулинемия развивается вторично в связи с нарушенной способностью инсулина стимулировать метаболизм глюкозы в скелетных мышцах (резистентность к инсулину). Другой способствующий старению эффект инсулина состоит в стимуляции полиненасыщенных жирных кислот и угнетению протеосома. Авторы полагают, что данные о существенном увеличении продолжительности жизни *C. elegans* с мутациями, тормозящими передачу сигнала инсулина (Kimura et al., 1997), или увеличении

Таблица 7.4

Особенности метаболизма глюкозы и некоторых физиологических функций у грызунов при старении, ограничении калорийности питания, генетических модификациях и применении антидиабетических бигуанидов

Действующие факторы	Толерантность к глюкозе	Чувствительность к инсулину	Уровень в плазме крови			Вес тела	Репродуктивная функция	Устойчивость к окислительному стрессу	Частота новообразований
			Инсулин	Гормон роста	IGF-1				
Старение	↓	↓	↑	↓	↓	↑	↓	↓	↑
Ограничение калорийности питания	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↓
Карликовые мыши Эймса	↑	↑	↓	Отсутствует	↓	↓	↓	↑	=
<i>Ghr</i> <sup>-/-</sup>	↑	↑	↓	↑	↓	↓	↓	↓	=
<i>Igf1r</i> <sup>+/-</sup>	↑	↑	↓	↓	↓	↓	=	↑	=
FIRKO		↓ в адипоцитах	↓	↓	↓	↓	НД	НД	НД
Антидиабетические бигуаниды	↑	↑	↓	↓	↓	↓	=	↑	↓

Примечание. НД — нет данных.

продолжительности жизни при ограничении калорийности питания, снижающем уровень глюкозы и инсулина в крови (Dean et al., 1998; Lane et al., 1995) и окислительный стресс (Xu, Badr, 1999), могут служить подтверждением их гипотезы. Аналогичным образом Matsumoto и соавт. (2000) связывают гипоталамические нарушения и гиперинсулинемию с ускоренным старением и нарушением регуляции репродуктивной функции, энергии и веса тела.

Снижение уровня гормона роста, инсулина и IGF-I — ведущие факторы увеличения продолжительности жизни у карликовых мышей Эймса (Bartke, 2005). У самок гетерозиготных мышей с частично нокаутированным геном рецептора IGF-1 (*Igf1r*<sup>+/-</sup>) наблюдали увеличение средней продолжительности жизни на 33 % по сравнению с самками дикого типа ( $p < 0.001$ ), тогда как у самцов — лишь на 16 %. У этих мышей не наблюдалось карликовости, основной обмен, температура тела, потребление корма, физическая активность и фертильность у них не отличались от контроля. Также не отличалась от контроля и частота развития спонтанных опухолей. В то же время *Igf1r*<sup>+/-</sup> мыши отличались большей устойчивостью к окислительному стрессу, чем контроль дикого типа (*Igf1r*<sup>+/+</sup>) (Holzenberger et al., 2003). У мышей FIRKO с избирательно нокаутированным в жировой ткани рецептором инсулина снижалось содержание жира в теле и на 18 % увеличивалась средняя и максимальная продолжительность жизни (Blüher et al., 2003).

Доказано, что у столетних существенно реже наблюдается резистентность к инсулину и чаще сохранена функция  $\beta$ -клеток инсулярного аппарата, чем в более молодых возрастных группах (Paolisso et al., 2001). В ряде недавних работ резистентность к инсулину и гиперинсулинемия рассматриваются как новые важные факторы в развитии рака (Colangelo et al., 2002; Gupta et al., 2002), причем указывается, что разработка лекарственных средств, восстанавливающих чувствительность к инсулину и соответственно снижающих уровень инсулина, может стать наиболее приоритетным направлением в профилактике рака (Gupta et al., 2002). Использование миметиков калорийно ограниченной диеты, повышающих чувствительность к инсулину и снижающих уровень глюкозы в организме является перспективным направлением в современной геронтологии (см. главу 15).

В табл. 7.4 суммированы данные об изменениях в системе гормон роста—IGF-1—инсулин—глюкоза при нормальном старении и у животных, содержащихся на ограниченной по калорийности диете, с генетически модифицированными изменениями в углеводном обмене и при введении антидиабетических бигуанидов. Можно видеть, что применение антидиабетических бигуанидов более адекватно препятствует возрастным изменениям указанных параметров в организме при старении. Подробно сведения о геронотекторном эффекте антидиабетических препаратов приведены в главе 15.

### Л и т е р а т у р а

Анисимов В. Н. Изменения уровня биогенных аминов в головном мозге лабораторных животных и человека в процессе развития и старения // Успехи физиол. наук. 1979. Т. 10, № 1. С. 54—75.

Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003. 468 с.

Анисимов В. Н., Остроумова М. Н., Дильман В. М. Возрастное повышение гипоталамо-гипофизарного порога к тормозящему действию эстрогенов и влияние на этот процесс эпифизарного экстракта // Бюл. экспер. биол. мед. 1974. Т. 77, № 4. С. 100—102.

Бабичев В. Н. Характеристика нейронов гипоталамической области, регулирующих гонадопротную функцию гипофиза у старых самцов и самок крыс // Бюл. экспер. биол. мед. 1973. Т. 75, № 6. С. 3—6.

Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г. И. Марчука, В. Н. Анисимова, А. А. Романюхи, А. И. Яшина. М.: Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 535 с.

Дильман В. М. Старение, климакс и рак. Л.: Медицина, 1968. 378 с.

Дильман В. М. Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.

Михальский А. И., Семенченко А. В., Анисимов В. Н., Яшин А. И. Старение и смертность грызунов // Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г. И. Марчука, В. Н. Анисимова, А. А. Романюхи, А. И. Яшина. М.: Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний. 2007. С. 376—395.

Михальский А. И., Яшин А. И. Управление старением и продолжительностью жизни // Пробл. управл. 2004. № 4. С. 46—53.

Пальцев М. А., Кветной И. М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. М.: ОАО «Издательство Медицина», 2006. 384 с.

- Ревской С. Ю. Онкосупрессор bcl-2 как возможный посредник между генотоксическим стрессом и нарушением гормонального гомеостаза // *Вопр. онкол.* 2001. Т. 47. С. 224—229.
- Скулачев В. П. Старение организма — особая биологическая функция, а не результат поломки сложной живой системы: биохимическое обоснование концепции Вейсмана // *Биохимия.* 1997. Т. 62. С. 1369—1399.
- Смирнова И. О., Кветной И. М., Князькин И. В., Данилов С. И. Нейроиммуноэндокринология кожи и молекулярные маркеры ее старения. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2004. 236 с.
- Тодоров И. Н., Тодоров Г. И. Стресс, старение и их биохимическая коррекция. М.: Наука, 2003. 479 с.
- Яшин А. И., Украинцева С. В. Новые идеи, методы, проблемы в моделировании демографических и эпидемиологических проявлений старения // *Пробл. управл.* 2004. № 4. С. 18—26.
- Яшин А. Я., Романюха А. А., Михальский А. И. и др. Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины // *Успехи геронтол.* 2007. Т. 20, № 1. С. 7—19.
- Anisimov V. N. *Carcinogenesis and Aging*. Vol. 1 & 2. Boca Raton: CRC Press, 1987. 165 p.; 148 p.
- Ashheim P. Aging in the hypothalamic-hypophyseal-ovarian axis in the rat // *Hypothalamus, Pituitary, and Ageing* / Eds A. V. Everitt, J. A. Burges. Springfield: C. C. Thomas, 1976. P. 376—418.
- Barbieri M., Bonafe M., Franceschi C., Paolisso G. Insulin/Igf-1-signaling pathway: an evolutionary conserved mechanism of longevity from yeast to humans // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 285. P. 1064—1071.
- Bartke A. Role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging // *Endocrinology.* 2005. Vol. 146. P. 3718—3723.
- Blüher M., Kahn B. B., Kahn C. R. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue // *Science.* 2003. Vol. 299. P. 572—574.
- Bonafe M., Barbieri M., Marchegiani F. et al. Polymorphic variants of insulin-like growth factor I (IGF-I) receptor and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-I plasma levels and human longevity: cues for an evolutionarily conserved mechanism of life span control // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 88. P. 3299—3304.
- Calabrese E. J., Baldwin L. A. Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis // *Crit. Rev. Toxicol.* 2001. Vol. 4—5. P. 353—424.
- Cannon W. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions // *Amer. J. Physiol.* 1914. Vol. 34. P. 356—372.
- Cargill S. L., Carey J. R., Mueller H.-G., Anderson G. Age of ovary determines remaining life expectancy in old ovariectomized mice // *Aging Cell.* 2003. Vol. 2. P. 185—190.
- Colangelo L. A., Gapstur S. M., Gann P. H. et al. Colorectal cancer mortality and factors related to the insulin resistance syndrome // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002. Vol. 4. P. 385—391.
- De Magalhaes J. P., Cabral J. A. S., Magalhaes D. The influence of genes on the aging process of mice : a statistical assessment of the genetic of aging // *Genetics.* 2005. Vol. 265. P. 265—274.
- Dean D. J., Brozinick J. T., Cushman S. W., Cartee G. D. Calorie restriction increases cell-surface GLUT4 in insulin-stimulated skeletal muscle // *Am. J. Physiol.* 1998. Vol. 275. P. E957—E964.
- Dilman V. M. Age-associated elevation of hypothalamic threshold to feedback control and its role in development, aging and disease // *Lancet.* 1971. Vol. 1. P. 1211—1219.
- Dilman V. M. *Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention.* Chur: Harwood Academic Publ., 1994. 387 p.
- Dilman V. M., Anisimov V. N. Hypothalamic mechanism of ageing and of specific age pathology. I. Sensitivity threshold of hypothalamo-pituitary complex to homeostatic stimuli in the reproductive system // *Exp. Geront.* 1979. Vol. 14. P. 161—174.
- Dilman V. M., Anisimov V. N. Effect of treatment with phenformin, diphenylhydantoin or L-DOPA on life span and tumor incidence in C3H/Sn mice // *Gerontology.* 1980. Vol. 26. P. 241—245.

- Etgen A. M., Gonzalez-Flores O., Todd B. J.* The role of insulin-like growth factor-I and growth factor-associated signal transduction pathways in estradiol and progesterone facilitation of female reproductive behaviors // *Front. Neuroendocrinol.* 2006. Vol. 27. P. 363—375.
- Everett J. W., Sawyer C. H.* Estimated duration of the spontaneous activation which causes release of ovulating hormone from the rats hypophysis // *Endocrinology.* 1953. Vol. 52. P. 83—92.
- Facchini F. S., Hua N. W., Reaven G. M., Stoohs R. A.* Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? // *Free Radical Biol. Med.* 2000. Vol. 29. P. 1302—1306.
- Gupta K., Krishnaswamy G., Karnad A., Peiris A.N.* Insulin: a novel factor in carcinogenesis // *Am. J. Med. Sci.* 2002. Vol. 323. P. 140—145.
- Hayflick L.* The not-so-close relationship between biological aging and age-associated pathologies in humans // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 547—550.
- Hoffman A. P., Parsons P.* *Evolutionary Genetics and Environmental Stress.* Oxford: Oxford University Press. 1991.
- Hoffman A. P., Parsons P.* Selection for increased desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*: additive genetic control and correlated resistance for other stresses // *Genetics.* 1989. Vol. 122. P. 837—845.
- Holzenberger M., Dupond J., Ducos B. et al.* IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice // *Nature.* 2003. Vol. 421. P. 182—187.
- Johnson T., Cysper J., de Castro E. et al.* Gerontogenes mediate health and longevity in nematodes through increasing resistance to environmental toxins and stressors // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 687—694.
- Kenyon C.* A conserved regulatory system for aging // *Cell.* 2001. Vol. 105. P. 165—168.
- Kimura K. D., Tissenbaum H. A., Liu Y., Ruvkun G.* *daf-2*, an insulin receptor-like gene that regulated longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans* // *Science.* 1997. Vol. 277. P. 942—946.
- Lane M. A., Baer D. J., Tilmont E. M. et al.* Energy balance in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) subjected to long-term dietary restriction // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 1995. Vol. 50. P. B295—B302.
- Leroi A. M.* *Mutants: on Genetic Variety and the Human Body.* N. Y.: Viking, 2003.
- Leroi A. M., Bartke A., De Benedictis G. et al.* What evidence is for the existence of individual genes with antagonistic pleiotropic effects? // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 421—429.
- Lin Y. J., Seroude L., Benzer S.* Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant methuselah // *Science.* 1998. Vol. 282. P. 943—946.
- Lithgow G., Kirkwood T.* Mechanism and evolution of aging // *Science.* 1996. Vol. 273. P. 80.
- Longo V. D., Finch C. E.* Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? // *Science.* 2003. Vol. 299. P. 1342—1346.
- Lu J. K., Anzalone C. K., Lapolt P. S.* Relation of neuroendocrine function to reproductive decline during aging in the female rat // *Neurobiol. Aging.* 1994. Vol. 15. P. 541—544.
- Luckey T. D.* *Hormesis with Ionizing Radiation.* Boca Raton, FL.: CRC Press, 1980. 222 p.
- Lynch C. D., Lyons D., Khan A. et al.* Insulin-like growth factor-1 selectively increases glucose utilization in brains of aged animals. *Endocrinology.* 2001. Vol. 142. P. 506—509.
- Masoro E. J.* Caloric restriction and ageing: an update // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 299—305.
- Matsumoto A. M., Marck B. T., Gruenewald D. A. et al.* Aging and the neuroendocrine regulation and body weight // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 1251—1265.
- Matz J., LaVoi K., Moen R., Blake M.* Cold-induced heat shock protein expression in rat aorta and brown adipose tissue // *Physiol. Behav.* 1996. Vol. 60. P. 1369—1374.
- Meites J.* Aging: hypothalamic catecholamines, neuroendocrine-immune interactions, and dietary restriction // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1990. Vol. 195. P. 304—311.
- Mendez P., Wandosell F., Garcia-Segura L. M.* Cross-talk between estrogen receptors and insulin-like growth factor-1 receptor in the brain: cellular and molecular mechanisms // *Front. Neuroendocrinol.* 2006. Vol. 27. P. 391—403.

- Michalski A. I., Johnson T. E., Cypser J. R., Yashin A. I.* Heating stress patterns in *Caenorhabditis elegans* longevity and survivorship // *Biogerontology*. 2001. Vol. 2. P. 35—44.
- Minois N.* Longevity and aging: beneficial effects of exposure to mild stress // *Biogerontology*. 2000. Vol. 1. P. 15—29.
- Murakami S., Johnson T.* The old-1 positive regulator of longevity and stress resistance is under daf-16 regulation in *Caenorhabditis elegans* // *Curr. Biol*. 2001. Vol. 11. P. 1517—1523.
- Neafsey P. J.* Longevity hormesis. A review // *Mech. Ageing Dev*. 1990. Vol. 51. P. 1—31.
- Paolisso G., Barbieri M., Rizzo M. R. et al.* Low insulin resistance and preserved  $\beta$ -cell function contribute to human longevity but are not associated with TH-INS genes // *Exp. Gerontol*. 2001. Vol. 37. P. 149—156.
- Parkes T. L., Elia A. J., Dickinson D. et al.* Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons // *Nature Genetics*. 1998. Vol. 19. P. 171—174.
- Pollak M. N., Schernhammer E. S., Hankinson S. E.* Insulin-like growth factors and neoplasia // *Nat. Rev. Cancer*. 2004. Vol. 4. P. 505—518.
- Quadri S. K., Kledzik G. S., Meites J.* Reinitiation of estrous cycles in old constant-estrous rats by central-acting drugs // *Neuroendocrinology*. 1973. Vol. 11. P. 248—255.
- Raji N. S., Surekha A., Subba Rao K.* Improved DNA-repair parameters in PHA-stimulated peripheral blood lymphocytes of human subjects with low body mass index // *Mech. Ageing Dev*. 1998. Vol. 104. P. 133—148.
- Rattan S. I. S.* Aging, anti-aging, and hormesis // *Mech. Ageing Dev*. 2004. Vol. 125. P. 285—289.
- Rattan S. I. S.* Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals // *Free Radical Res*. 2006. Vol. 40. P. 1230—1238.
- Revskey S., Redei E.* Decreased in vitro sensitivity to dexamethasone in corticotropes from middle-age rats // *Exp. Gerontol*. 2000. Vol. 35. P. 237—242.
- Riegler G. D.* Aging effects on the hypothalamic-hypophyseal-gonadal control system in the rat // *Aging*. 1978. Vol. 4. P. 159—192.
- Riggs B. L.* Pathogenesis of osteoporosis // *Am. J. Obstet. Gynecol*. 1987. Vol. 156. P. 1342—1346.
- Rubin R., Baserga R.* Insulin-like growth factor-I receptor. Its role in cell proliferation, apoptosis, and tumorigenicity // *Lab. Invest*. 1995. Vol. 73. P. 311—331.
- Sacher G. A.* Life table modification and life prolongation // Eds. Finch CE, Hayflick L. *Handbook of the Biology of Aging*. N. Y.: Van Nostrand Reinhold, 1977. P. 582—638.
- Schwartz M. W., Woods S. C., Porte D. et al.* Central nervous system control of food intake // *Nature*. 2000. Vol. 404. P. 661—671.
- Selye H.* The evolution of the stress concept // *Am. Sci*. 1973. Vol. 61. P. 692—699.
- Selye H.* The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation // *J. Clin. Endocrinol*. 1946. Vol. 6. P. 117—230.
- Selye H.* *The Story of the Adaptation Syndrome*. Montreal, Quebec, Canada: Acta Inc., 1952.
- Semenchenko A. V., Anisimov V. N., Yashin A. I.* Stressors and antistressors: How do they influence life span in HER-2/neu transgenic mice? // *Exp. Gerontol*. 2004. Vol. 39. P. 1499—1511.
- Sonntag W. E., Lynch C. D., Cefalu W. T. et al.* Pleiotropic effects of growth hormone and insulin-like growth factor (IGF)-1 on biological aging: inferences from moderate caloric-restricted animals // *J. Gerontol. Biol. Sci*. 1999. Vol. 54A. P. B521—B538.
- Southam C., Ehrlich J.* Effect of extract of western red-cedar heartwood on certain wood decaying fungi in culture // *Phytopathology*. 1943. Vol. 33. P. 517—524.
- Sun J., Tower J.* FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies // *Mol. Cell. Biol*. 1999. Vol. 19. P. 216—228.
- Tatar M., Bartke A., Antebi A.* The endocrine regulation of aging by insulin-like signals // *Science*. 2003. Vol. 299. P. 1346—1351.
- Terman A., Brunk U.T.* Oxidative stress, accumulation of biological «garbage», and aging // *Antioxid. Redox Signal*. 2006. Vol. 8. P. 197—204.
- Van Heemst D., Beekman M., Mooijaart S. P. et al.* Reduced insulin/IGF-1 signaling and human longevity // *Aging Cell*. 2005. Vol. 4. P. 79—85.

*Verbeke P., Clark B. F. C., Rattan S. I. S.* Reduced levels of oxidized and glycoxidized proteins in human fibroblasts exposed to repeated mild heat shock during serial passaging in vitro // *Free Rad. Biol. Med.* 2001. Vol. 31. P. 1593—1602.

*Wang E.* Regulation of apoptosis resistance and ontogeny of age-dependent diseases // *Exp. Gerontol.* 1997. Vol. 32. P. 471—484.

*Wise R. M., Gerhold L. M., Cashion A. B.* Neuroendocrine modulation of menopause: evolution of our thinking // *Hormones, Age and Cancer* / Ed. L. M. Berstein. St. Petersburg: Nauka, 2005. P. 94—111.

*Xu L., Bard M. Z.* Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats: imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia // *Horm. Metab. Res.* 1999. Vol. 31. P. 278—282.

*Yashin A. I., Cysper J. R., Johnson T. B. et al.* Ageing and survival after different doses of heat shock: the results of analysis of data from stress experiments with the nematode worm *Caenorhabditis elegans* // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1477—1495.

*Yashin A. I., Cysper J. W., Johnson T. E., Michalski A. I. et al.* Heat shock changes the heterogeneity distribution in populations of *Caenorhabditis elegans*: Does it tell us anything about the biological mechanism of stress response? // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2002. Vol. 57. P. B83—B92.

*Yin W., Gore A.* Neuroendocrine control of reproductive aging: roles of GnRH neurons // *Reproduction.* 2006. Vol. 131. P. 403—414.

*Yu H., Rohan T.* Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression // *J. Natl. Cancer Inst.* 2000. Vol. 92. P. 1472—1489.



## Глава 8

### ЭПИФИЗ, БИОРИТМЫ ОРГАНИЗМА И СТАРЕНИЕ

Всевластный лик, глядящий с вышины!  
Настанет ночь — и взор летит из бездны,  
И наши сны, взлелеянные сны  
Пронизывает знанием надзвездным.

*А. А. Чижевский. Космос*

#### 8.1. ВВЕДЕНИЕ

Наиболее существенным для живой природы явлением на Земле является смена дня и ночи, света и темноты. Вращение ее вокруг своей оси и одновременно вокруг Солнца отмеряет сутки, сезоны и годы нашей жизни. Все больше сведений накапливается и о роли эпифиза (шишковидной железы) как основного ритмоводителя функций организма. Эпифиз, наряду с супрахиазматическим ядром (СХЯ) гипоталамуса, входит в систему так называемых биологических часов организма, играющих ключевую роль в механизмах «счета внутреннего времени» и старения. При этом СХЯ гипоталамуса играет роль центрального осциллятора, регулирующего подстройку ритмов обмена веществ и энергии к ритмам освещенности как к экзогенному источнику энергии (Арушанян, 1996, 2005; Чернышева, 2005).

Способность нейроэндокринной и гормональной систем к генерации различных временных процессов — ритмов, циклов, монофазных процессов разной длительности (например, пубертат, овуляторный цикл, беременность и др., циркадианные, сезонные и годовые ритмы различных физиологических параметров) — определенно указывает на наличие у них временной структуры (Арушанян, 1996; Чернышева, 2005; Ноздрачев, Чернышева, 2006). К числу первичных генераторов времени живых организмов относят осцилляторы разных уровней организации, а также таймеры отдельных физиологических систем, объединенные в хронотоп целостного организма (Чернышева, 2005).

**Осцилляторы ритма** представляют собой колебательную систему, самостоятельно поддерживающую эндогенный ритм благодаря замкнутой внутри нее короткой петле обратной связи (Алпатов, 2000). Как указывает М. П. Чернышева (2005), свойствами осциллятора обладают тканевые водители ритма, некоторые метаболические реакции, кинетика продукции некоторых гормонов и т. д. Кроме центрального осциллятора, в поддержании ритмов организма существенную роль играют периферические осцилляторы, в качестве которых выступают так называемые часовые гены (Reppert, Weaver, 2002; Reddy et al., 2005). Совокупность осцилляторов всех структурных уровней, входящих в ту или иную физиологическую систему, обра-

зует **таймер** такой системы, обладающий сетевыми свойствами (Чернышева, 2005). Подчеркивается, что в силу этого таймеры обладают способностью генерировать макроритмы с большими, чем у осцилляторов, значениями периода и амплитуды.

М. П. Чернышева (2005) указывает, что наиболее значимой функцией гормонального таймера является регуляция продолжительности жизни клетки и организма в целом. Кроме того, он запускает долговременные программы, характерные для определенных этапов онтогенеза, т. е. формирует направленное время («стрелу времени») жизни. Выявление ритмов активности иммунной и нервной систем свидетельствует об их вовлеченности, наряду с эндокринной системой, во временную структуру организма.

## 8.2. РОЛЬ ЭПИФИЗА В ОРГАНИЗМЕ

Знаю, что смертен, что век мой недолог, и все же — когда я  
Сложный исследую ход круговращения звезд,  
Мнится, земли не касаюсь ногами, но гостем Зевеса  
В небе амвросией я, пищей бессмертных, кормлюсь.

*Клавдий Птолемей (90—160 гг. н. э.). Альмагест*

Эпифиз является нейроэндокринным органом и обнаружен у всех позвоночных (Arendt, 1995; Комаров и др., 2004; Коваленко, 2005). Физиологический контроль эндокринной функции эпифиза осуществляется в значительной мере световым режимом. Световая информация, воспринимаемая глазами, передается в эпифиз по нейронам СХЯ гипоталамуса через ствол верхней грудной части спинного мозга и симпатические нейроны верхнего шейного ганглия. В темное время суток сигналы от СХЯ вызывают увеличение синтеза и высвобождения норадреналина из симпатических окончаний. Этот нейромедиатор возбуждает рецепторы, расположенные на мембране пинеалоцитов, стимулируя, таким образом, синтез мелатонина. Свет угнетает продукцию и секрецию мелатонина, и поэтому его максимальный уровень в эпифизе и крови человека и животных наблюдается в ночные часы, а минимальный — в утренние и дневные.

Необходимо отметить, что в организме присутствует и экстрапинеальный мелатонин, т. е. синтезированный вне эпифиза. Честь открытия экстрапинеальной продукции мелатонина принадлежит российским ученым Н. Т. Райхлину и И. М. Кветному. В 1975 г. они установили, что способностью синтезировать мелатонин обладают клетки червеобразного отростка кишечника (Raikhlin, Kvetnoy, 1975). Затем было показано, что мелатонин образуется и в других отделах желудочно-кишечного тракта, и многих других органах — печени, почках, надпочечниках, желчном пузыре, яичниках, эндометрии, плаценте, тимусе, а также лейкоцитах, тромбоцитах и в эндотелии (Кветной и др., 1999). Феномен синтеза гормонов негормональными

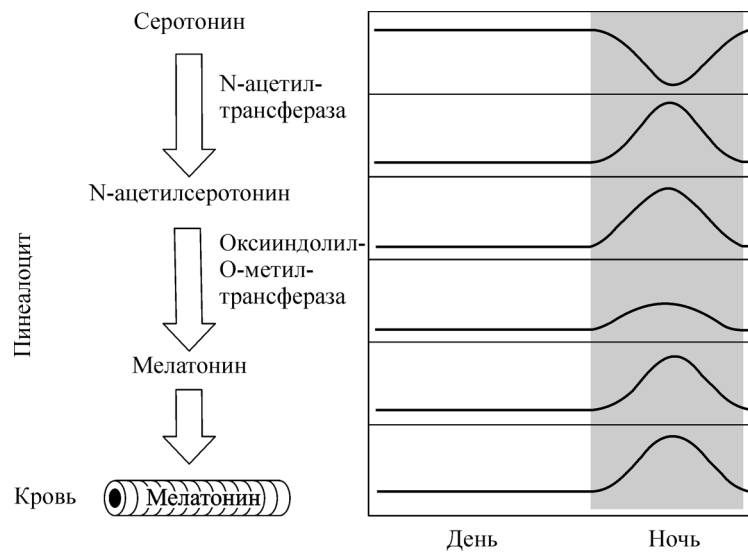


Рис. 8.1. Биосинтез и суточный ритм мелатонина.

клетками служит подтверждением гипотезы эволюционной древности гормонов, которые, по-видимому, появились еще до обособления эндокринных желез. Вопрос о том, является ли этот путь синтеза гормона фотонезависимым, до сих пор окончательно не решен. Биологическое действие экстрапинеального мелатонина реализуется непосредственно там, где он синтезируется.

Если эпифиз уподобить биологическим часам организма, то мелатонин можно уподобить маятнику, который обеспечивает ход этих часов. Снижение амплитуды его колебаний приводит к их остановке. Пожалуй, более точно будет сравнить эпифиз с солнечными часами, в которых мелатонин играет роль тени от гномона — стержня, отбрасывающего тень от солнца. Днем солнце высоко и тень коротка (уровень мелатонина минимален), в середине ночи — пик синтеза мелатонина эпифизом и секреции его в кровь. При этом важно то, что мелатонин имеет суточный ритм, т. е. единицей его измерения является хронологический метроном — суточное вращение Земли вокруг своей оси (Anisimov, 1995).

Мелатонин является производным биогенного амина — серотонина, который в свою очередь синтезируется из аминокислоты триптофана, поступающей с пищей. Активность ферментов, участвующих в превращении серотонина в мелатонин, подавляется освещением — вот почему биосинтез этого гормона происходит в темное время суток (рис. 8.1).

Взаимодействие мелатонина с клетками может происходить различными путями. Мелатонин обладает амфифильными свойствами, т. е. растворяется как в воде, так и в жирах. Благодаря этому он преодолевает все тканевые барьеры, свободно проходит через клеточные мембраны. Мелатонин может воздействовать на внутриклеточные процессы как минуя систему ре-

цепторов и сигнальных молекул, так и путем взаимодействия с ядерными и мембранными рецепторами. Рецепторы к мелатонину обнаружены в различных ядрах гипоталамуса, сетчатке глаза и других тканях нейрогенной и иной природы (Анисимов и др., 1997; Anisimov S., Popovic, 2004).

Физиологические функции эпифиза в организме весьма многообразны (Arendt, 1995; Reiter, 1995; Анисимов и др., 1997; Коваленко, 2005; Коркушко и др., 2006).

Удаление эпифиза приводит к практически полному исчезновению мелатонина из кровеносного русла. У эпифизэктомированных лабораторных животных (крыс) ускоряется половое созревание, продлевается овуляторная фаза цикла, наблюдается снижение уровня инсулина и толерантности к глюкозе, повышение уровня холестерина и свободных жирных кислот. У молодых животных ускоряется рост тела. У собак с удаленным эпифизом повышается секреция желудочного сока, животные становятся более агрессивными. У человека следствием эпифизэктомии (предпринятой в связи с развитием опухоли) является нарушение различных циркадианных ритмов, например водно-солевого обмена, повышение артериального давления и другие изменения.

Основными функциями эпифиза в организме являются: регуляция циркадианных и сезонных ритмов организма; регуляция репродуктивной функции; антиоксидантная защита организма; противоопухолевая защита. Есть основания полагать, что эпифиз является «солнечными часами старения» (Anisimov, 1995).

Все биологические ритмы находятся в строгой подчиненности основному водителю ритмов, расположенному в супрахиазматических ядрах гипоталамуса (Арушанян, 2005). Гормоном-посредником, доносящим руководящие сигналы до органов и тканей, собственно и является мелатонин. При этом характер ответа регулируется не только уровнем гормона в крови, но и продолжительностью его ночной секреции. Кроме этого мелатонин обеспечивает адаптацию эндогенных биоритмов к постоянно меняющимся условиям внешней среды.

Регулирующая роль мелатонина универсальна для всех живых организмов, о чем свидетельствует присутствие этого гормона и четкая ритмичность его продукции у всех известных животных, начиная с одноклеточных. В рамках суточного ритма организма мелатонин поддерживает цикл сна—бодрствования, суточные изменения двигательной активности и температуры тела (рис. 8.2). Концентрация его в крови нарастает с наступлением темноты и достигает своего максимума за 1—2 часа до пробуждения. В это время сон человека наиболее глубокий, а температура тела достигает своего минимума.

Изобретение более ста лет назад электричества и искусственного освещения кардинально изменило как световой режим, так и продолжительность воздействия света на человека. Воздействие света в ночное время, часто называемое световым загрязнением, увеличилось и стало существенной частью современного образа жизни, что сопровождается множеством серь-

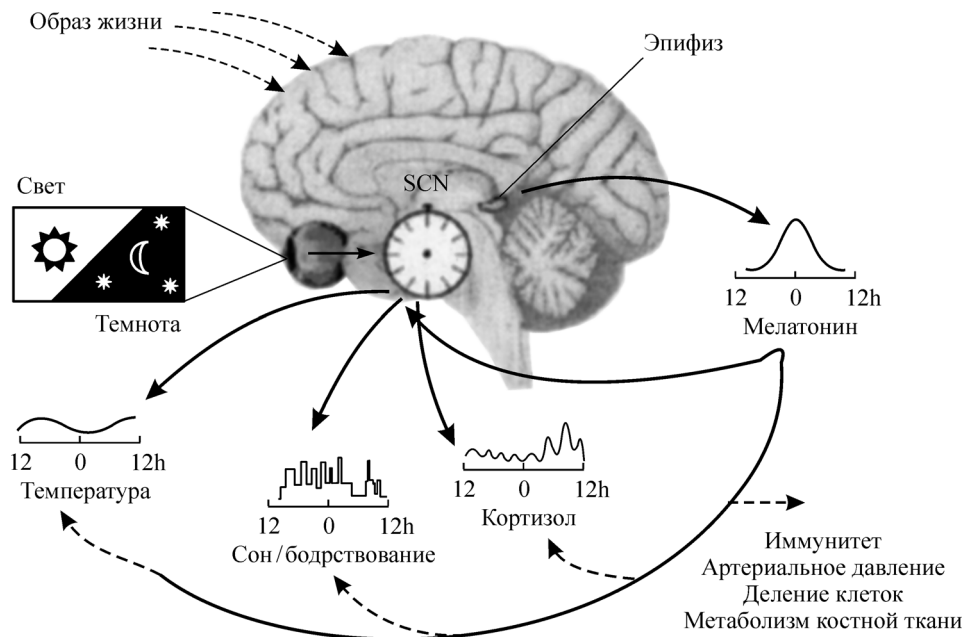


Рис. 8.2. Синхронизация биоритмов.

езных расстройств поведения и состояния здоровья, включая сердечно-сосудистые заболевания и рак. Согласно гипотезе «циркадианной деструкции», воздействие света в ночные часы нарушает эндогенный суточный ритм, подавляет ночную секрецию мелатонина, что приводит к снижению его концентрации в крови (Stevens, 2005; Anisimov, 2006). Важно отметить, что старые животные более чувствительны к изменениям фотопериода, чем молодые (Djeridane et al., 2005).

Тщательно проведенные исследования показали, что освещенность в 1.3 лк монохромного синего света или в 100 лк белого света может значительно подавить продукцию мелатонина эпифизом. Значительное снижение уровня мелатонина было обнаружено у добровольцев, подвергнутых в течение 2 недель прерывистому воздействию света ночью. Подчеркивается, что воздействие света ночью влияет и на другие физиологические механизмы (Arendt, 1995).

Циркадианная система включает в себя три ключевых компонента: 1) эндогенные «часы», генерирующие циркадианный ритм; 2) афферентный путь, определяющий циркадианный ритм в соответствии с астрофизическим днем и 3) эфферентный путь, распределяющий сигналы от центрального генератора по периферическим органам. В 2002 г. была обнаружена до того неизвестная функция клеток нервного узла сетчатки глаза. У млекопитающих эти клетки играют ключевую роль в регуляции реакций, не связанных с визуальным световым ответом, таких как реакция поведения на свет,

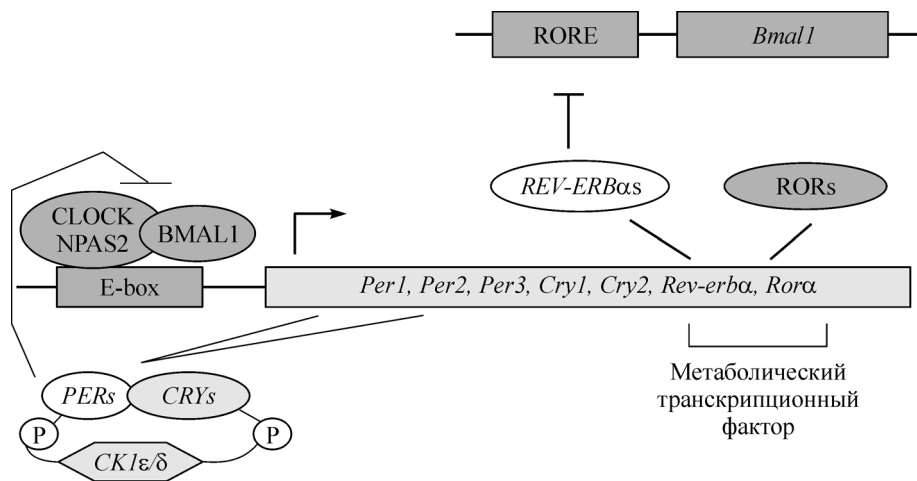


Рис. 8.3. Механизм внутренних молекулярных часов клетки.

синтез эпифизарного мелатонина и латентный период засыпания. Показано, что аксоны нейронов ганглия сетчатки глаза соединяются с циркадианным генератором — супрахиазматическими ядрами (СХЯ) гипоталамуса. Информация о свете от сетчатки глаза передается к СХЯ через ретиногипоталамический путь, являющийся частью зрительного тракта, который заканчивается в середине СХЯ.

Молекулярный часовой механизм в СХЯ составлен из взаимодействующих положительной и отрицательной обратных связей регулирующих петель нескольких (по крайней мере, их девять) основных циркадианных «часовых» генов (*Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry-1*, *Cry-2*, *Clock*, *Bmal1/Mop3*, *Tim* и др.) (рис. 8.3) (Reppert, Weaver, 2002; Korf et al., 2003; Reddy et al., 2005; Kondratov, 2007; Miller et al., 2007). Показано, что свет напрямую воздействует на экспрессию некоторых «часовых» генов, обеспечивающих циркадианный ритм. Эти гены регулируют функции клеток, контролирующих экспрессию генов ключевого клеточного цикла деления и генов апоптоза. Мутации в некоторых часовых генах драматически сказываются на многих функциях организма и приводят к развитию различных патологических процессов и сокращению продолжительности жизни (Anisimov, 2006; см. главу 12, раздел 12.4.14).

Воздействие света на функции эпифиза у человека имеет несколько особенностей, которые оказывают влияние на состояние здоровья:

- воздействие яркого света ночью (~2500 лк) полностью подавляет продукцию мелатонина;
- некоторые люди более чувствительны к действию освещения ночью (~200 лк), чем другие;
- сине-зеленый свет ночью угнетает продукцию мелатонина в максимальной степени;

- вероятно, действие света ночью зависит от его интенсивности;
- качество света в течение дня также, вероятно, влияет на ночное производство мелатонина;
- женщины являются более чувствительными к подавляющим эффектам ночного света на продукцию мелатонина, чем мужчины.

Следует заметить, что в последние годы появились данные о том, что избыточное питание, ассоциированное с ожирением и сахарным диабетом, нарушает циркадианные ритмы при участии ряда часовых генов (*Clock*, *Bmal1*, *Cern4l* и некоторых других) (Green et al., 2007; Kohsaka et al., 2007; Ramsey, Bass, 2007). Мыши, нокаутные по гену *Nocturnin* (*Noc* или *Cern4l*), функция которого состоит в кодировании циркадианной деаденилазы, определяющей резистентность к диабету, оказались устойчивыми к ожирению и развитию диабета при содержании на диете с избытком жира (Green et al., 2007). Полагают, что ген *Noc* контролирует специфическую циркадианную регуляцию липидного обмена и утилизации жира в организме (Ramsey, Bass, 2007).

### 8.3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИФИЗА ПРИ СТАРЕНИИ

Сведения о возрастных изменениях строения эпифиза немногочисленны. По данным Izawa (1925) у крыс, начиная с рождения и до 150-го дня жизни вес эпифиза постепенно увеличивается (примерно в 6 раз), достигая максимума к 360-му дню. Было отмечено, что вплоть до глубокой старости пинеалоциты сохраняют все морфологические признаки функциональной активности. Несмотря на наличие тонких структурных изменений и умеренно выраженных атрофических изменений в интерстициальной ткани — в эпифизах старых крыс отсутствовали глиоз и кальцификация (Johnson, 1980), присущие эпифизам стариков. Однако другие авторы находили их как у крыс, так и у монгольских гербилов (Quay, 1965). По данным Н. С. Миловидовой (1976) у двухлетних крыс в 4 раза по сравнению с половозрелыми увеличивается объем пинеалоцитов, почти в 7 раз — количество митохондрий и липидных гранул, и почти в 10 раз — общее количество везикул. Изменяется и внутреннее строение митохондрий: появляются гигантские митохондрии и митохондрии трубчатого типа. Однако J. Voys и J. Calvo (1984) полагают, что у крыс истинной атрофии паренхимы эпифиза с возрастом не происходит.

D. J. Allen и соавт. (1982), использовали сканирующий и трансмиссивный электронные микроскопы для изучения возрастных изменений структуры эпифизов крыс. Исследованы были 8 эпифизов от молодых (1-месячных) и 9 эпифизов от старых (24—30-месячных) крыс. Было выявлено, что с возрастом увеличивается толщина соединительнотканной капсулы эпифиза и относительное количество клеток соединительной ткани и волокон, увеличивается число вакуолей, плотных пузырьков и телец в пинеалоцитах.

Отмечено также увеличение числа митохондрий с плотной оболочкой и продольным расположением крипт, увеличение объема липидных капель в цитоплазме и увеличение числа и объема конкреций в эпифизах старых крыс.

Сравнивая морфологические и ультраструктурные особенности строения эпифиза у 2-месячных и 2-летних крыс, О. В. Жукова (1991) обнаружила возрастное снижение количества функционирующих светлых пинеалоцитов, просветление цитоплазмы и ядер в темных клетках. Отмечено уменьшение объема ядер, конденсация хроматина, появление компактных ядрышек, что указывает на ослабление синтетической активности эпифиза. Об этом же свидетельствует уменьшение числа секреторных гранул в пинеалоцитах старых животных, появление в них вакуолей различных размеров и увеличение содержания лизосом.

По данным W. Humbert и P. Pevet (1994) в эпифизах старых (28-месячных) самцов крыс Вистар имеет место 12 %-ное уменьшение общего числа пинеалоцитов по сравнению с молодыми (3-месячными) животными. При детальном электронно-микроскопическом анализе было отмечено уменьшение на 30 % количества типичных «светлых» функционирующих пинеалоцитов и увеличение на 140 % числа «темных» пинеалоцитов. Цитохимически в «темных» пинеалоцитах выявлено большое количество кальцификатов, значительно меньшее в «светлых» клетках.

W. Humbert и P. Pevet (1995a,b, 1996) исследовали с помощью цитохимических методов, рентгеновского микроанализа, трансмиссивной и сканирующей электронной микроскопии генез кальциевых отложений в эпифизах старых крыс. Кальций откладывался главным образом в темных пинеалоцитах, характеризовавшихся множественными ультраструктурными признаками дегенерации. Было выявлено два типа конкреций — «аморфный» и «кристаллический», с игловидными кристаллами кальцификатов. Однажды образовавшись, конкреции увеличивались в размерах и, достигнув наружной поверхности клетки, разрушали ее. При анализе микроэлементного состава конкреций оказалось, что с возрастом в них существенно увеличивается содержание серы, кальция, кремния и железа, тогда как концентрация натрия, магния, хлора, калия, титана, хрома, никеля, меди и цинка не изменяется, а фосфора — снижается. Было показано, что образование конкреций в эпифизе тесно связано с волокнами коллагена, что определяет их преимущественное расположение в соединительной ткани, окружающей эпифиз у старых крыс (Humbert et al., 1997). Общее число темных пинеалоцитов у старых (28-месячных) крыс было существенно большим, чем у молодых (3—4-месячных). Однако общее число пинеалоцитов с возрастом снижалось. Авторы полагают, что полученные ими данные определенно свидетельствуют о снижении с возрастом функциональной активности эпифиза у крыс. N. Prosenc и J. Cervos-Navarro (1994) не сумели выявить сколь-либо значимых различий в электронно-микроскопическом строении эпифиза у 6-недельных и 18-месячных самцов крыс Вистар.

Существенное нарастание минерализации эпифиза крыс с возрастом было выявлено в работе S. K. Majeed (1997). Автор показал, что если у крыс



моложе 1 года частота минерализации составляла 6.3 % у самцов и 5.6 % у самок, то у крыс в возрасте 1.5—2 лет этот показатель достигал 83 % у самцов и 57 % у самок. Фокальная минерализация наблюдалась лишь в субкапсулярной области, в основном будучи связана с мелкими сосудами.

По наблюдениям А. М. Хелимского (1958, 1969), с возрастом в эпифизе человека уменьшается общее число пинеалоцитов при неизменности объема железы. В цитоплазме пинеалоцитов с возрастом накапливается липофусцин, наблюдается фрагментация и почкование ядер. Как на признак старения эпифиза указывается на увеличение его кальцификации («песок» в эпифизе). Наблюдается возрастное огрубление ретикулиновой стромы. Очаговые глиозы и кисты, как отмечает автор, встречаются во всех возрастных группах, но наиболее часто в возрасте от 10 до 40 лет. Специфическая паренхима железы сохраняет при этом признаки активной функции до глубокой старости. Следует отметить, что у женщин репродуктивного возраста с рентгенологически выявляемым обызвествлением эпифиза секреция мелатонина с мочой была снижена по сравнению с таковой у женщин без признаков обызвествления эпифиза (Фаттахова, 1988).

На основании углубленного морфологического исследования 100 эпифизов погибших от случайных причин практически здоровых лиц в возрасте от 30 до 93 лет С. В. Петров (1984) пришел к выводу о снижении с возрастом функциональной активности эпифиза. По его мнению, инволютивные процессы в эпифизе начинаются в более поздние сроки, чем в других звеньях эндокринной системы. И хотя они достигают своего максимума на восьмой декаде, начальные проявления инволюции обнаруживаются уже в возрасте 50 лет. У лиц старше 50 лет в железе уменьшается число сосудов, дающих положительную реакцию на щелочную фосфатазу, а после 70 лет обнаруживаются выраженные склеротические изменения артериол и облитерация капилляров. Наиболее рано обнаруживаются изменения химизма сосудистых стенок, что нарушает обменные процессы, транспорт веществ через сосудистую стенку и при нарастании склеротических явлений может затруднять реализацию обратных связей в системе эпифиз—гипофиз. С возрастом наблюдается небольшое увеличение веса железы, нарушение оптимального соотношения паренхиматозных и стромальных элементов, уменьшение удельного объема паренхимы, объема ядер, ядрышек, количества РНК в пинеалоцитах, увеличивается количество липофусцина. Подобные изменения наступают тогда, когда специфическая активность органа подавлена, а накопление липофусцина расценивается как косвенный показатель нарушения пластических процессов в результате уменьшения скорости поступления кислорода, обусловленного прогрессирующим с возрастом склерозом кровеносных сосудов. О снижении функции пинеалоцитов при старении говорит, видимо, и увеличение липидного компонента в органе, поскольку известно (Quay, Ma, 1976), что при повышении функциональной активности эпифиза количество липидов в нем уменьшается. Обнаружено, что с возрастом снижается и количество секреторных гранул, содержащих, как полагают, эпифизарные гормоны.

О. К. Хмельницкий и А. С. Ступина (1989) указывают, что значительные колебания веса железы у пожилых людей обусловлены не возрастом, а наличием патологических процессов (глиозы, кисты и т. д.). В процессе старения при сохранении гистологической структуры железы и уменьшения общего числа пинеалцитов не выявлено преобладания какого-либо типа клеток. Наблюдалось лишь уменьшение ядер и некоторый их полиморфизм. Авторы отметили изменение цитоархитектоники железы в виде «поляризации» ядер пинеалцитов вследствие формирования «розеток» и фолликулов, найденных в 61 % случаев. Подчеркивается не только увеличение элементов соединительной ткани, но и увеличение в ней коллагеновых волокон. При электронно-микроскопическом исследовании эпифизов при старении были также выявлены характерные изменения, позволившие авторам (Хмельницкий, Ступина, 1989) сделать вывод о значительных изменениях структуры железы и снижении ее функциональной активности.

При исследовании 2700 эпифизов, полученных при аутопсии людей, погибших от разных причин в возрасте от младенческого до 90 лет, выявлено увеличение размеров эпифиза от 10 до 50 лет с 80—100 до 150—160 мг, связанное прежде всего с фиброзом (Gusek, 1983). Эти изменения не были связаны с уменьшением числа паренхиматозных клеток и уровнем отложенный кальция. Автор приходит к выводу, что «истинной сенильной атрофии эпифиза не происходит». С этим выводом согласуются данные А. Hasegawa и соавт. (1987), не обнаруживших различий в строении эпифизов людей разного возраста, включая столетних, при морфологическом изучении на уровне светового микроскопа, однако при электронно-микроскопическом исследовании было выявлено возрастное увеличение числа липофуциновых гранул и инвагинаций ядра.

Определение уровня кальция атомно-абсорбционной спектроскопией в эпифизах людей, погибших в возрасте от 3 месяцев до 65 лет, показало, что он прямо коррелирует с возрастом и обратно коррелирует как с дневным, так и с ночным уровнем мелатонина в эпифизе (Schmid et al., 1994). При электронно-микроскопическом исследовании кальциевых отложений в эпифизах лиц в возрасте от 2 до 85 лет в ряде случаев наблюдали в их отсутствие в эпифизах даже очень старых людей, что, по мнению авторов, не свидетельствует в пользу причинной связи между старением и их формированием (Galliani et al., 1989). По мнению авторов, образование кальциевых конкреций в пинеалocyтах связано скорее с секреторной их активностью, чем с атрофией клеток. Близость отложений к структурам цитоскелета указывает на возможность участия компонентов цитоскелета в их образовании.

Таким образом, несмотря на определенную фрагментарность, морфологические исследования, выполненные с помощью как световой, так и электронной или сканирующей микроскопии, свидетельствуют скорее об отсутствии выраженных дегенеративных изменений в эпифизах старых людей и животных и о возрастном снижении функциональной активности эпифиза. Этот вывод подтверждается результатами изучения возрастных особенностей синтеза мелатонина в эпифизе, его концентрации в крови и экскреции с мочой (см. ниже).

#### 8.4. ИЗМЕНЕНИЯ ИННЕРВАЦИИ ЭПИФИЗА ПРИ СТАРЕНИИ

По мнению R. I. Wurtman и соавт. (1968) возрастные отличия в синтезе пинеалоцитами биогенных аминов отсутствуют. Однако по данным С. В. Петрова (1984) активность MAO и реакции Гримелиуса с возрастом прогрессивно снижаются в эпифизе человека, что в определенной степени отражает снижение его функциональной активности. Изучая возрастную зависимость эпифизарных влияний на центральные дофаминергические механизмы апоморфиновой стереотипии у крыс, Э. Б. Арушанян и К. Б. Ованесов (1988) выявили снижение эффективности контроля железой этих механизмов при старении животных.

Концентрация  $\beta$ -адренергических рецепторов в паренхиме шишковидной железы очень высока по сравнению с другими структурами головного мозга, и существенно снижается при старении у крыс, как это происходит, например, в мозжечке и полосатом теле (Cimino et al., 1984). Эпифиз, как и другие отделы мозга, с возрастом теряет способность увеличивать число рецепторов в ответ на адренергическую депривацию (Greenberg, 1986). Ограничение калорийности питания замедляет возрастное снижение концентрации  $\beta$ -адренергических рецепторов в эпифизе у крыс. При этом у подопытных животных активность N-ацетилтрансферазы в эпифизе оказывается повышенной по сравнению с контролем (Stokkan et al., 1991; Henden et al., 1992). Однако в этих работах измеряемые показатели определялись только один раз в сутки, что оставляет открытым вопрос о сдвиге акрофазы без изменений амплитуды или интегрального уровня мелатонина. Кроме того, среди старых животных были крысы с тяжелой патологией, включая опухоли. Измерение суточной экскреции 6-сульфатоксимелатонина с мочой у крыс, у которых отсутствовали патологические процессы, показало, что ограничение калорийности питания не сказывается на суточной продукции мелатонина (MacGibbon et al., 2001). Однако учитывая, что вес подопытных животных был меньше, чем в контроле, есть основания полагать, что средняя концентрация мелатонина в тканях у голодавших крыс была выше, чем в контроле.

Функциональная денервация эпифиза происходит и со стороны источников его симпатической иннервации. Морфологическое исследование аксонов от верхних шейных ганглиев пациентов с болезнью Альцгеймера и у лиц пожилого возраста выявило признаки их дегенерации (Jengeleski et al., 1989). Активность маркерного фермента катехоладренергических аксонов тирозингидроксилазы в эпифизе 25-месячных крыс была в 2 раза ниже, чем у 4-месячных. После односторонней симпатической денервации как у старых крыс, так и у молодых, она снижается на 50 %, но, если у молодых она восстанавливается развитием коллатералей, то у старых животных этого не происходит (Kuchel, 1993). Это различие может быть обусловлено как недостаточностью факторов роста нервов в самом эпифизе, так и недостаточностью регенеративной способности нейронов, иннервирующих эпифиз.

Первая возможность менее вероятна, поскольку уровень фактора роста нервов и его иРНК в эпифизе крыс с возрастом не снижается (Kuchel et al., 1999).

### 8.5. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РИТМА И ПРОДУКЦИИ МЕЛАТОНИНА У ЧЕЛОВЕКА

Но все-таки биенье мига прекраснее веков забвенья!..

*Игорь Северянин*

По данным Н. Iguchi и соавт. (1982) дневной уровень мелатонина в сыворотке крови снижается у здоровых людей, начиная с раннего детского возраста (1-й год жизни) и до глубокой старости (более 90 лет). Ночной подъем мелатонина в крови у лиц пожилого возраста менее выражен, чем у молодых людей. В детском возрасте, около 7 лет, секреция мелатонина оказывается наиболее высокой. В период созревания она снижается, причем достаточно отчетливо отмечается ее падение в период наступления половой зрелости. Одновременно с этим в плазме крови увеличивается концентрация ЛГ, причем обратно пропорционально снижению мелатонина (Touitou, 2001; Waldhauser et al., 1998).

В исследованиях на людях было установлено, что с возрастом снижается как концентрация в ночные часы в крови мелатонина, так и экскреция с мочой его основного метаболита 6-сульфатоксимелатонина (Sack et al., 1986). Уровень мелатонина в плазме крови у 80-летних мужчин был в 1.7—2 раза меньшим, чем у молодых 24-летних (Touitou et al., 1997) (рис. 8.4).

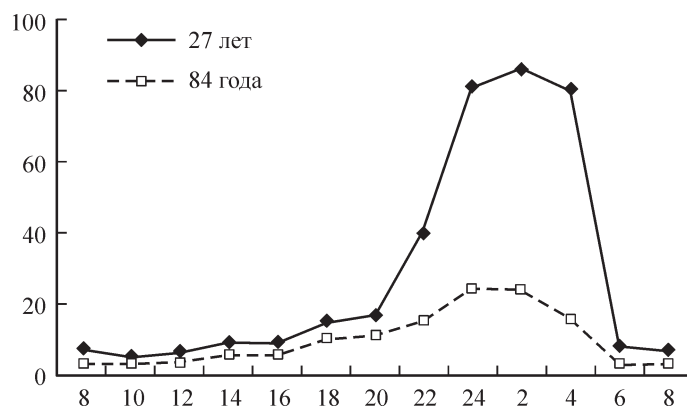


Рис. 8.4. Уровень мелатонина в крови у мужчин разного возраста.

По оси абсцисс — время суток, часы; по оси ординат — концентрация мелатонина в сыворотке крови, пМ/мл.

У 53 % из 757 пожилых лиц в возрасте 80 лет дневной уровень мелатонина в крови был низким (0.17 нМ или меньше), а у 75 % из лиц с низким уровнем мелатонина его концентрация не достигала 0.13 нМ (Touitou et al., 1981). Подчеркивается, что постепенное снижение содержания мелатонина при старении организма не вызвано кальцификацией железы, как это предполагали ранее, а является следствием уменьшения адренергической иннервации и количества  $\beta$ -адренергических рецепторов на поверхности пинеалоцитов, что и уменьшает их общее число и метаболическую активность (Touitou, Hous, 1994; Touitou, 2001; Touitou et al., 1997). Положительная корреляция между содержанием мелатонина в плазме и экскрецией 6-сульфатоксимелатонина с мочой указывает на то, что у пожилых людей с нормальной функцией печени снижение концентрации мелатонина в плазме крови является не следствием ускоренного метаболизма и выведения, а связано с его пониженной продукцией эпифизом. Уровни содержания мелатонина в плазме крови были статистически значимо ниже в январе у молодых мужчин, в то время как у пожилых они были ощутимо ниже уже в октябре (Touitou, Hous, 1994; Touitou, 2001).

У пожилых больных болезнью Альцгеймера в возрасте от 55 до 83 лет было отмечено существенное снижение ночного уровня мелатонина в крови по сравнению с практически здоровыми лицами такого же возраста, при этом был отмечен сдвиг ночной фазы его секреции, а дневной уровень был увеличен (Skene et al., 1990; Sandyk, 1997; Nair et al., 1998). Вместе с тем у больных болезнью Паркинсона не было выявлено каких-либо нарушений в уровне или ритме секреции мелатонина по сравнению со здоровыми лицами (Sandyk, 1997).

Снижение суточной экскреции мелатонина с мочой было выявлено у мужчин в возрасте 30—39 лет и 40—49 лет по сравнению с 20—29-летними (Гриневиц, Лабунец, 1985). У практически здоровых женщин с сохраненным менструальным циклом суточная экскреция мелатонина в возрасте от 20 до 49 лет существенно не изменялась, однако у женщин старше 30 лет было отмечено нарушение ритмического функционирования эпифиза, что проявлялось отсутствием снижения уровня экскреции мелатонина в овуляторную фазу менструального цикла.

При исследовании возрастной динамики концентрации мелатонина в крови и слюне здоровых людей в возрасте от 23 до 110 лет было выявлено достоверное снижение ночного уровня мелатонина у старых лиц (Magri et al., 2004; Коркушко и др., 2006). Экскреция 6-сульфатоксимелатонина (6-SOMT) с мочой также снижалась с возрастом (Hendrick et al., 2002; Magri et al., 2004). Отмечают, что у большинства пожилых людей (71 %) функциональная активность пинеальной железы снижена, тогда как у одной трети пожилых имеет место достаточно высокий уровень мелатонина в крови и высокая амплитуда его суточного ритма (Коркушко и др., 2006). По данным этих авторов пожилые здоровые люди с сохраненной мелатонинообразующей функцией эпифиза имеют более высокие функциональные возможности организма и ниже показатели биологического возраста. Следует отме-

тять, что у столетних людей ночная экскреция 6-СОМТ была выше, чем у пожилых, и сохранялся отчетливый суточный ритм продукции мелатонина эпифизом (Magri et al., 2004).

## 8.6. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РИТМА И ПРОДУКЦИИ МЕЛАТОНИНА У ЖИВОТНЫХ

Снижение функциональной активности эпифиза с возрастом выявлено также у животных разных видов: крыс, хомячков, песчанок (Бондаренко, 1991). Ночной уровень мелатонина, серотонина, 5-оксииндолилуксусной кислоты, норадреналина и дофамина в эпифизах 18-месячных самцов крыс был снижен по сравнению с 8-недельными животными (Tang et al., 1985). Изучение содержания мелатонина и N-ацетилтрансферазы в эпифизах самок крыс в возрасте 2, 12 и 29 мес. днем (в 16 часов), вечером (в 23 часа) и ночью (в 1 час) показало, что дневной уровень N-ацетилтрансферазы в эпифизах крыс с возрастом не изменяется (Reiter et al., 1995). Однако ночью он существенно меньше у животных старшей возрастной группы. Авторы отметили существенное угнетение циркадианного ритма мелатонина у старых крыс. Так, если его уровень у молодых крыс с 16 до 23 часов увеличился в 12 раз, а к 1 часу ночи в 17 раз, то у 29-месячных крыс, это увеличение составило только в 6 и 7 раз соответственно. У сирийских хомячков в возрасте 2 мес. ночной уровень мелатонина превышал дневной показатель в 8 раз, тогда как у старых (18-месячных) животных ночной подъем мелатонина отсутствовал (Reiter et al., 1980). По мнению авторов это нарушение обусловлено не уменьшением содержания в эпифизе норадреналина или же отсутствием чувствительности  $\beta$ -адренорецепторов к катехоламинам, а связано со снижением интенсивности конверсии серотонина в мелатонин.

Л. А. Бондаренко (1991) исследовала содержание в эпифизе серотонина, N-ацетилсеротонина, мелатонина, 5-метокситриптамина, 5-ОИУК и 5-МОИУК у самцов крыс Вистар в возрасте от 1 до 36 месяцев. Серотонин и все продукты его обмена были обнаружены в эпифизе уже у неполовозрелых крысят. В период полового созревания наблюдалось снижение концентрации N-ацетилсеротонина и мелатонина. Для зрелых 6-месячных крыс было характерно интенсивное превращение серотонина в мелатонин, когда его концентрация была наивысшей. Уже у годовалых животных наблюдалось угнетение превращения серотонина по пути его N-ацетилирования и O-метилирования, о чем свидетельствовало снижение уровня N-ацетилсеротонина и мелатонина. У старых 24-месячных самцов крыс уровень серотонина в эпифизе увеличивался, тогда как концентрация мелатонина продолжала уменьшаться. Лишь у очень старых 36-месячных крыс наблюдалось значительное снижение содержания в эпифизе как самого серотонина, так и продуктов его обмена. Изучение особенностей метаболизма серотонина по пути окислительного дезаминирования и последующего O-метилирования с

образованием 5-ОИУК и 5-МОИУК выявило значительное уменьшение концентрации суммарной фракции индолацетата в препубертатном периоде, ее повышение в период полового созревания и ранней половозрелости, низкое содержание в репродуктивном периоде, некоторое увеличение концентрации индолацетата у старых крыс и резкое угнетение моноаминоксидазного пути превращения серотонина в глубокой старости (Бондаренко, 1991).

Близкие результаты были получены при исследовании возрастных изменений дневного и ночного уровней мелатонина, других индоламинов и катехоламинов в эпифизах самцов крыс линии Sprague-Dawley и сирийских хомячков (Miguez et al., 1998). Установлено существенное снижение уровня серотонина и 5-ОИУК в дневное время у 24-месячных, но не у 12-месячных крыс, по сравнению с 3-месячными. Ночной уровень 5-ОИУК, N-ацетилсеротонина и мелатонина был также уменьшен у старых крыс, хотя их циркадианный ритм в целом сохранялся. Были отмечены циркадианные вариации в концентрации норадреналина, дофамина и 3,4-диоксифенилацетоуксусной кислоты в эпифизах молодых (3-месячных) и зрелых (12-месячных) крыс, тогда как у старых животных он был нарушен. Уровень дофамина в эпифизах старых крыс был существенно снижен в ночные часы по сравнению с молодыми животными. Okatani и соавт. (1999) установили, что уровень мелатонина в ночные часы у самок крыс снижается с возраста 4 месяцев, однако в возрасте 12—14 месяцев, предшествующем возрастному выключению репродуктивной функции, увеличивается, что связано с резким снижением продукции эстрадиола. После этого периода снова наблюдается существенное снижение продукции мелатонина.

У старых крыс с ановуляторным синдромом (персистирующим эструсом) или с ановуляторным синдромом, индуцированным неонатальной андрогенизацией, наблюдается стойкое снижение продукции мелатонина эпифизом (Ruzsas et al., 1997).

У сирийских хомячков существенное снижение концентрации серотонина и 5-ОИУК в дневные часы наблюдалось в возрасте 12 и 18 месяцев, тогда как ночной пик этих веществ снижался у хомячков старше 18 месяцев. Ночной уровень N-ацетилсеротонина постепенно снижался у хомячков с 12-месячного возраста, а уровень мелатонина уменьшался на 74 и 86 % соответственно в эпифизах 18- и 24-месячных животных. Был отмечен отчетливый циркадианный ритм концентрации всех этих веществ вне зависимости от возраста хомячков. Напротив, уровень дофамина и 3,4-диоксифенилацетоуксусной кислоты, проявлявший отчетливый циркадианный ритм в эпифизах хомячков в возрасте 1.5 и 6 месяцев, были существенно снижены у 12- и 18-месячных животных. Авторы полагают, что полученные результаты свидетельствуют о том, что возрастное снижение уровня мелатонина в эпифизе обусловлено снижением его метаболизма из серотонина. В основе этого процесса лежит, по-видимому, снижение активности N-ацетилтрансферазы, связанное с нарушениями катехоламинергической иннервации.

У джунгарских хомячков суточная амплитуда изменений уровня мелатонина в эпифизе старых (17—22 месяцев) животных была в 2.5 раза мень-

шей, чем у 3—6-месячных животных (Hoffman, Parsons, 1991). Отсутствовал ночной подъем уровня мелатонина в крови и у старых (20-месячных) монгольских гербилов (Reiter, 1995). Имеются указания на возрастное снижение концентрации мелатонина в цереброспинальной жидкости (Waldhauser, Wurtman, 1983) и в сетчатке глаза человека (Cremer-Bartels, 1979).

Н. Д. Гончарова и соавт. (2007) исследовали суточный ритм мелатонина в плазме крови у молодых и старых самок обезьян *Macaca rhesus* и обнаружили отчетливое возрастное снижение ночного пика концентрации мелатонина. Амплитуда суточного ритма мелатонина у старых обезьян была почти в 1.7 раза выше, чем у молодых.

Из числа пептидных факторов, найденных в эпифизе, в геронтологическом аспекте исследован только вазопрессин. Было установлено, что у крыс содержание в эпифизе с возрастом не снижается, в отличие от гипоталамуса, таламуса, среднего мозга и миндалины (Terwel et al., 1992).

Таким образом, данные литературы достаточно убедительно свидетельствуют о возрастном снижении функциональной активности эпифиза у животных и человека, причем наиболее существенным нарушением является снижение амплитуды ночного подъема мелатонина. Механизм этого явления неизвестен. Имеется несколько предположений на этот счет. Во-первых, снижение продукции мелатонина в эпифизе может быть обусловлено уменьшением количества катехоламиновых рецепторов на мембранах пинеалоцитов, связывающих стимулирующий продукцию мелатонина норадреналин (Greenberg, Weiss, 1978; Henden et al., 1992). Во-вторых, к этому может приводить снижение с возрастом способности постганглионарных нервов к синтезу и высвобождению медиатора (Reiter et al., 1980). Наконец, уменьшение концентрации в эпифизе предшественников мелатонина, например серотонина, или активности ферментов, катализирующих реакции образования мелатонина, также может приводить в конечном счете к снижению уровня мелатонина в эпифизе (Klein, Weller, 1981). Данные Л. А. Бондаренко (1991) свидетельствуют о том, что активность N-ацетилтрансферазы и оксииндол-О-метилтрансферазы у старых животных достаточно высока. Не нашло подтверждения и предположение о роли возрастного снижения плотности  $\beta$ -адренорецепторов на мембране пинеалоцитов в уменьшении продукции мелатонина (Dax, Sugden, 1988). Не подтвердилось и предположение о возможной роли уменьшения концентрации предшественников мелатонина, поскольку концентрация серотонина у 24-месячных крыс была весьма высока (Бондаренко, 1991). Цикличность экспрессии важнейших часовых генов (*Per1*, *Per2*, *Cry1*) в эпифизе существенно не изменяется (Asai et al., 2001).

Л. А. Бондаренко (1991) полагает, что определенную роль в возрастном снижении продукции мелатонина могут играть сигналы от супрахиазматического ядра, через которое опосредуются влияния внешних факторов, в частности света, на функцию эпифиза. Близкой точки зрения придерживаются Røeggeler и соавт. (1993), приписывающие ключевую роль в этом процессе возрастной деструкции нейронов СХЯ гипоталамуса глутаматом, передаю-



щим информацию о световом режиме от сетчатки глаз к нейронам этого ядра. Эти весьма интересные предположения нуждаются в экспериментальной проверке. Вместе с тем, как подчеркивает Л. А. Бондаренко (1991), для очень старых животных характерно глубокое угнетение продукции всех изученных индоллов.

Недавно было установлено, что с возрастом уменьшается число рецепторов мелатонина в СХЯ гипоталамуса у мышей СЗН/HeN, при этом был нарушен и циркадианный ритм их связывания с 2-[<sup>125</sup>I]йодомелатонином (Dubocovich, 2007). Вместе с тем у старых крыс не наблюдали снижения плотности рецепторов мелатонина в СХЯ по сравнению с молодыми животными (Laitinen et al., 1992), однако было выявлено существенное снижение проведения сигнала после световой стимуляции (Sutin et al., 1993; Vencloucif et al., 1997). Есть основания полагать, что эти нарушения могут играть определенную роль в возрастном снижении функции эпифиза. Подчеркивается, что чувствительность внутренних «часов» ритмоводителя (СХЯ) к мелатонину у старых животных сохраняется, что оправдывает применение экзогенного мелатонина для восстановления синхронизации циркадной системы у пожилых (Dubocovich, 2007).

### **8.7. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА**

Циркадианные ритмы играют существенную роль в адаптации организма к периодическим изменениям окружающей среды, прежде всего к смене дня и ночи. У млекопитающих циркадианные циклы регулируются эндогенными часами, центральным компонентом которых являются парные супрахиазматические ядра (СХЯ) гипоталамуса (Арушанян, 2005; Hoffman, Swaab, 2006). У человека они занимают объем около 1 мм<sup>3</sup> и состоят из 100 000 нейронов. Выделяют вентролатеральную центральную часть СХЯ (core) и дорсомедиальную наружную часть (shell). Нейроны наружной части имеют небольшие размеры, немного дендритов и содержат аргининвазопрессин (AVP) и нейротензин, тогда как в центральной части нейроны относительно большие, имеют много дендритов и содержат вазоактивный интестинальный полипептид (VIP), гастрин-высвобождающий пептид, нейротензин, нейропептид-Н, субстанцию-Р и калбиндин. Многие нейроны в обоих отделах СХЯ содержат ГАМК. Вентромедиальная часть СХЯ получает волокна от нейронов ретиногипоталамического тракта. Окончания ретиногипоталамического тракта содержат глутамат, а также полипептид, активирующий аденилат-циклазу, которая кодирует химически информацию о свете и темноте.

Хотя циркадианные ритмы генерируются эндогенно, они не функционируют изолированно от их окружения. Скорее, они подстраиваются внешни-

ми сигналами, тем самым предупреждая естественные временные вариации часовых генов *Clock* и *Bmal1*. Осцилляции этих и других часовых генов являются важным элементом в изучении биологических часов. Клетки центральной части СХЯ получают иннервацию непосредственно от сетчатки глаз и экспрессируют *c-fos*, *Per1* и *Per2* в ответ на сдвигающие фазу световые импульсы. В этих клетках ритмическая экспрессия *Per1* и *Per2* отсутствует или эти гены экспрессируются в противофазе к их экспрессии в наружной части СХЯ. Центральные нейроны СХЯ осциллируют в ответ на световой сигнал, и хотя их пульсация увеличивается в нейронах СХЯ, свет индуцирует экспрессию часовых генов в СХЯ только в ночное время (Reppert, Weaver, 2002; Hoffman, Swaab, 2006).

Электролитическое разрушение СХЯ полностью нарушает большинство циркадианных ритмов организма (Reppert et al., 1981). В ряде работ приводятся данные, свидетельствующие о возрастной деструкции нейронов СХЯ (Hofman, Swaab, 2006) и уменьшении в них числа рецепторов к мелатонину (Dubocovich et al., 2007) У старых животных отмечают уменьшение количества нейронов в СХЯ, появление гиперхромных, дистрофически измененных и находящихся в апоптозе нейронов, накопление в клетках липидов и липофусцина (Rooszendaal et al., 1987). Ритм электрической активности нейронов в СХЯ старых крыс имеет меньшую амплитуду по сравнению с таковой у молодых животных (Watanabe et al., 1995). У мышей электрическая активность нейронов центральной части СХЯ с возрастом существенно не изменялась, однако ее ритм поддерживался только у молодых животных и отсутствовал у старых (Nygard et al., 2005).

Следует отметить, что в ряде исследований было показано, что общее число нейронов в СХЯ и объем их ядер с возрастом не изменяется у грызунов (Tsukahara et al., 2005). Это позволяет полагать, что наблюдаемые у старых животных нарушения циркадианных ритмов обусловлены не структурными изменениями в СХЯ, а изменениями в системе передачи регулирующих сигналов, дисфункцией биологических часов при старении. Важную роль в этих механизмах могут играть цитокины, поскольку экспрессия мРНК некоторых из них, например  $\text{INF-}\gamma\text{R}$  и  $\text{TNF-}\alpha$ , в нейронах СХЯ с возрастом снижается (Чернышева, 2005; Bentivoglio et al., 2006).

По мере старения как человека, так и других млекопитающих циркадианная временная система прогрессивно нарушается, о чем свидетельствует уменьшение амплитуды и длины периодов циркадианных ритмов, а также возрастающая тенденция к внутренней десинхронизации (van Someren, 2000). Первые проявления нарушений в циркадианной временной системе при старении могут проявляться патологией сна—пробуждения.

Возникает вопрос, почему временная организация и консолидация сна и других физиологических ритмов столь значительно изменяется с возрастом? Наблюдения над животными позволяют предполагать, что имеют место возрастные изменения в свойствах циркадианного осциллятора, который регулирует временной режим сна, температуры и других параметров в течение 24 часов.

## 8.8. ФУНКЦИЯ ЧАСОВЫХ ГЕНОВ ПРИ СТАРЕНИИ

Загадка вечности и века —  
Кто отмеряет наши дни,  
Что заставляет человека  
Расти, стареть, затем уйти?  
Кто месяцы считает, годы?  
Ответ поищем у природы.

В. А. Часы жизни

В настоящее время известно несколько основных циркадианных «часовых» генов (*Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry-1*, *Cry-2*, *Clock*, *Bmal1/Mop3*, *Tim* и др.) (табл. 8.1) (Reppert, Weaver, 2002; Korf et al., 2003; Reddy et al., 2005; Kondratov, 2007).

С возрастом многие циклические функции организма постепенно нарушаются как у человека, так и у других млекопитающих (van Someren, 2000; Комаров и др., 2004). У человека это прежде всего возрастные нарушения гормональных ритмов, температуры тела, сна—пробуждения, многих поведенческих реакций. У старых млекопитающих животных отмечают снижение амплитуды и увеличение частоты осцилляций по сравнению с молодыми (Satinoff et al., 1993). У людей в возрастной группе 60—74 года у большинства физиологических показателей наблюдается положительный фазовый сдвиг циркадианного ритма (~1.5—2 ч) с его последующей десинхронизацией у лиц старше 75 лет (Gubin, Gubin, 2001).

Недавние наблюдения показали, что у грызунов имеют место возрастные нарушения в функции циркадианного осциллятора на уровне индивидуальных клеток СХЯ (Hoffman, Swaab, 2006). Так, Kolker и соавт. (2003) обнаружили нарушение 24-часового профиля экспрессии генов *Clock* и *Bmal1* в СХЯ старых хомячков. При этом не наблюдалось влияния возраста на суточный профиль экспрессии *Per1* и *Per2*, содержащихся в постоянной темноте, тогда как свет индуцировал меньше *Per1*, но не *Per2* в СХЯ старых хомячков. Учитывая важность этих генов в генерации циркадианных ритмов, можно было ожидать, что экспрессия одного либо обоих этих *Per* гомологов будет уменьшаться с возрастом в СХЯ старых животных. Такие данные были получены у крыс (Asai et al., 2001), однако в другой работе не удалось наблюдать изменений в экспрессии *Per1* в СХЯ старых крыс (Yamasaki et al., 2002). Складывается впечатление, что хотя индукция светом гомологов генов *Per* нарушается при старении, дневной ритм их экспрессии одинаков у молодых и старых грызунов. У молодых и старых мышей экспрессия *mPer1* и *mPer2* была ритмичной, при этом с возрастом экспрессия *mPer2* снижалась, а *mPer1* не изменялась. В то же время уровень экспрессии *mClock* и *mCry1* не зависел от времени дня и от возраста мышей (Weinert et al., 2001). Данные об отсутствии возрастных изменений в уровне экспрессии гена *Per1* у мышей и *Clock* у хомячков были получены и другими исследователями (Sadki et al., 2006; Kolker et al., 2004).

Таблица 8.1

## Гены циркадианных ритмов (часовые гены) млекопитающих

Ген	Свойства	Авторы
<i>Period1 (Per1)</i> <i>Period2 (Per2)</i> <i>Period3 (Per3)</i>	Мутации нарушают ритмы у грызунов и человека. Физически ассоциированы с CRY и белками PER. Позитивный регулятор <i>Bmal1</i>	Tei et al., 1997; Takumi et al., 1998
<i>Cryptochrome 1 (Cry 1)</i> <i>Cryptochrome 2 (Cry 2)</i>	Мутации нарушают ритмы у грызунов. Физически ассоциирован и стабилизирует PER. Негативный регулятор транскрипции <i>Per</i>	Thresher et al., 1998; Van der Horst et al., 1999
<i>Circadian locomotor output cycles kaput (Clock)</i>	Мутации нарушают ритмы у грызунов. Физически ассоциирован с BMAL1. Связывается с E-боксами и промотирует транскрипцию <i>Per</i> и <i>Cry</i>	Vilaterna et al., 1994; King et al., 1997
<i>Brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator [ARNT]-like protein 1 (Bmal1/Mop3)</i>	Мутации нарушают ритмы у грызунов. Экспрессируется ритмически. Физически ассоциирован с CLOCK. Связывается с E-боксами и промотирует транскрипцию <i>Per</i> и <i>Cry</i>	Gekakis et al., 1998
<i>Casein kinase 1ε (CK1ε)</i>	Мутации нарушают ритмы у грызунов. У хомячков нарушается мутацией <i>tau</i> . Протеинкиназа. Физически ассоциирован и фосфорилирует PER. Нарушает стабильность PER и локализацию в ядре	Ralph, Menaker, 1998; Toh et al., 2001
<i>Dec1 (Stra13/Sharp2/BHLHB2); Dec2 (Sharp1/BHLHB3)</i>	Основной фактор транскрипции спираль—петля—спираль, подавляет <i>Clock</i> . <i>Bmal1</i> -индуцируемый промотор трансактивации мышинового <i>Per1</i> путем прямого белок—белок взаимодействия с <i>Bmal1</i> и/или завершения для E-box элементов	Honma et al., 2002
<i>Timeless (mTim)</i>	Выключение dTim нарушает ритм нейрональной активности СХЯ и нарушает уровень корковых часовых элементов. Связан с PER в осцилляции клеток СХЯ	Barnes et al., 2003

Экспрессия часовых генов крыс существенно менялась с возрастом в периферических тканях (печени и сердце) (Claustrat et al., 2005). В печени старых (27 мес.) крыс экспрессия гена *Per* в вечерние часы была существенно снижена по сравнению с таковой у крыс среднего возраста (13 мес.), тогда как в сердце это различие носило характер тенденции. Уровень экспрессии гена *Bmal1* у старых крыс вечером повышался по сравнению с 13-месячными животными.

В ряде исследований было показано, что стареющие пострепликативные клетки сосудистой стенки накапливаются преимущественно в атеросклеротических бляшках, что может быть одной из причин сосудистой дисфункции (Minamino et al., 2002). Полагают, что клеточное старение, обу-

словенное прогрессивным укорочением теломер в клетках сосудистой стенки человека, играет ведущую роль в патогенезе сосудистого старения (Minamino et al., 2003). Недавно было установлено, что циркадианная экспрессия генов часовых ритмов существенно нарушается при клеточном старении как *in vitro*, так и *in vivo* (Kunieda et al., 2006). В опытах с первичной культурой клеток сосудистых гладких мышц (HSMC) авторы показали, что при их репликативном старении наблюдается существенное снижение амплитуды экспрессии генов *BMAL1* и *PER2* по сравнению с клетками, находящимися на ранних пассажах. Индукция каталитического компонента теломеразы (TERT) полностью восстанавливала амплитуду экспрессии этих часовых генов в стареющих клетках сосудистой стенки. Это нарушение было ассоциировано с уменьшением ответа  $Ca^{2+}$ /цАМФ-чувствительного элемента (CREB), кодирующего белок, участвующий в регуляции синтеза арилалкиламид-N-ацетилтрансферазы, ключевого гена в биосинтезе мелатонина. Затем авторы исследовали ритм экспрессии часовых генов в сердечной мышце и жировой ткани 8- и 70—80-недельных мышей C57BL/6. Оказалось, что и *in vivo* в периферических тканях при старении наблюдается уменьшение амплитуды экспрессии часовых генов *BMAL1* и *PER2*. Таким образом, поскольку было обнаружено увеличение числа стареющих клеток в сердечной мышце людей с сердечной недостаточностью (Chimenti et al., 2003), можно предположить, что центральный ритмоводитель не способен поддерживать периферический циркадианный ритм у пациентов с атеросклерозом или сердечной недостаточностью. Нарушенный циркадианный ритм периферических часов может приводить к дисрегуляции экспрессии генов, контролируемых часовыми генами, например ингибитора-1 активатора плазминогена и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), играющих важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний (Kunieda et al., 2006).

Хотя существует много данных, свидетельствующих о том, что при старении нарушается широкий спектр физиологических, эндокринных и поведенческих ритмов, остается невыясненным, являются ли они следствием изменений в центральном осцилляторе, периферических осцилляторах или механизмом, который опосредует синхронизацию между осцилляторами. В то время как стимулируемая светом индукция экспрессии генов *Per1* и *Per2* снижена в супрахиазматическом ядре (СХЯ) гипоталамуса старых крыс, цикличность экспрессии важнейших часовых генов существенно не изменяется с возрастом как в СХЯ, так и в эпифизе (Asai et al. 2001). Однако авторы отметили возрастное снижение амплитуды экспрессии *Cry1*.

Yamasaki и соавт. (2002) показали, что тогда как в СХЯ молодых и старых крыс циркадианный ритм экспрессии гена *Per1* мало отличается, в периферических тканях старых животных наблюдаются его серьезные нарушения. В опытах Kunieda и соавт. (2006) с пересадкой тканей было показано, что стареющие имплантанты не синхронизируются с ритмом молодого реципиента. Активацией CREB удается восстанавливать способность старых клеток синхронизировать ритм. В соответствии с этим культивируемые ткани от старых крыс восстанавливали ритмичность после воздействия

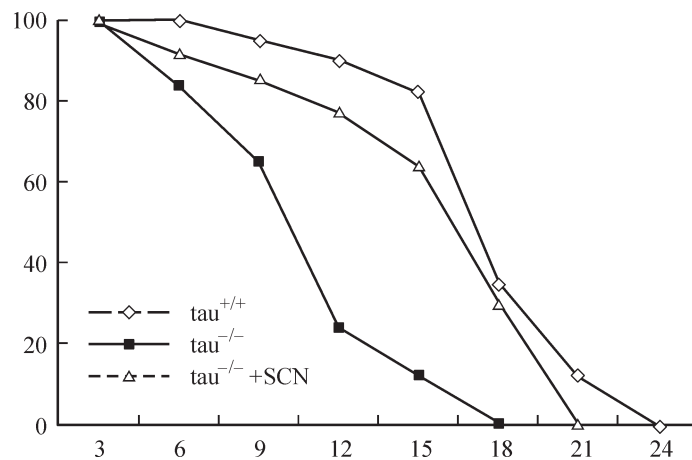


Рис. 8.5. Изменения продолжительности жизни у хомячков с мутацией *tau* в супрахиазматическом ядре гипоталамуса и при пересадке эмбриональной ткани.

По оси абсцисс — возраст, нед.; по оси ординат — количество животных, %.

форсколином. Воздействие сывороточного фактора (факторов) от молодых мышцей восстанавливало у старых мышцей регенерацию мышцей, что позволяет предполагать критическую роль системных факторов в возрастных изменениях. С другой стороны, имплантанты от молодых мышцей синхронизировались ритмами старых реципиентов (Kunieda et al., 2006), что позволяет исключить возможность того, что циркулирующие факторы, которые изменяются с возрастом, имеют отношение к нарушению ритмичности в периферических часах старых животных. Более вероятным представляется предположение, что старение нарушает подстройку циркадианных сигналов к внешней стимуляции в периферических часах. Итак, клеточное старение в периферических тканях нарушает синхронизацию циркадианных ритмов в периферических часах.

M. W. Hurd и M. R. Ralph (1998) исследовали роль циркадианного ритма в старении организма на золотистых хомячках *Mesocricetus auratus* с мутацией ритмоводителя *tau*. Авторы получили 3 группы хомячков: имеющих дикий тип (+/+), гомозиготов  $\tau^{-}/\tau^{-}$  и гетерозиготов  $\tau^{-}/+$ , а затем их гибриды. Предварительные 3-летние наблюдения показали, что гетерозиготы  $\tau^{-}/+$  имели на 20 % меньшую продолжительность жизни, чем гомозиготы. Продолжительность жизни мутантных гетерозиготов  $\tau^{-}/+$ , содержащихся при режиме 14 часов — свет; 10 часов — темнота, была почти на 7 месяцев короче, чем в группах гомозиготов +/+ или  $\tau^{-}/\tau^{-}$  ( $p < 0.05$ ), однако средняя продолжительность жизни обеих гомозиготных групп была практически одинаковой. При круглосуточном содержании хомячков в условиях постоянного слабого освещения (20—40 лк) с 10-недельного возраста средняя продолжительность жизни гетерозиготов и гомозиготов была одинаковой и колебалась от 15 до 18 месяцев. Для изучения причин влияния циркадианного

**Таблица 8.2**

**Мутации в часовых генах у мышей: основные эффекты**

Ген, мутация	Наблюдаемые эффекты	Авторы
<i>Per2</i> <sup>-/-</sup>	Уменьшение продолжительности жизни, преждевременное поседение и нарушения репродуктивной функции, увеличение частоты опухолей	Fu et al., 2000
<i>Clock/Clock</i>	Ожирение, метаболический синдром, преждевременные нарушения репродуктивной функции	Turek et al., 2005; Miller et al., 2004
<i>Cry1</i> <sup>-/-</sup>	Не влияет на смертность и частоту опухолей	Gauger, Sancar, 2005
<i>Bmal1</i> <sup>-/-</sup>	Уменьшение продолжительности жизни, увеличение ПОЛ, катаракта, саркопения	Kondratov et al., 2006

ритма на продолжительность жизни авторы имплантировали в головной мозг старых хомячков СХЯ гипоталамуса от плодов хомячков различного генотипа. Было установлено, что хомячки с прижившимися имплантатами жили в среднем на 4 месяца дольше, чем интактные или ложнооперированные контрольные животные. Авторы полагают, что результаты их экспериментов свидетельствуют о том, что нарушения циркадианного ритма сокращают продолжительность жизни животных, тогда как их восстановление с помощью имплантации фетального СХЯ (спонтанного осциллятора) увеличивает ее почти на 20 % (рис. 8.5). Таким же эффектом, по мнению авторов, будут обладать любые воздействия, направленные на нормализацию циркадианного ритма. Интересно, что разрушение осциллятора (СХЯ) приводит к сокращению продолжительности жизни животных (DeCoursey et al., 2000).

Мутации в часовых генах мышей приводят к преждевременному старению животных (табл. 8.2), тогда как хорошая экспрессия часовых генов *mPer1*, *mPer2*, *mClock* и *mCry1* рассматривается как фактор, определяющий долголетие у мышей, несущих ген  $\alpha$ -*MUPA* (Froy et al., 2006). Подробнее эти работы рассмотрены ниже в главе 12.

## 8.9. СВЕТОВОЙ РЕЖИМ, СТАРЕНИЕ И ВОЗРАСТНАЯ ПАТОЛОГИЯ

С утра до ночи — целый день  
Часы считает палки тень.  
Но если ночью солнце спит,  
И время, может быть, стоит?

В. А. Часы жизни

В 1959 г. впервые было установлено, что удаление эпифиза в молодом возрасте приводит к существенному уменьшению продолжительности жизни крыс по сравнению с контролем (Malm et al., 1959). Эти данные были подтверждены и другими авторами (Reiter et al., 1999).

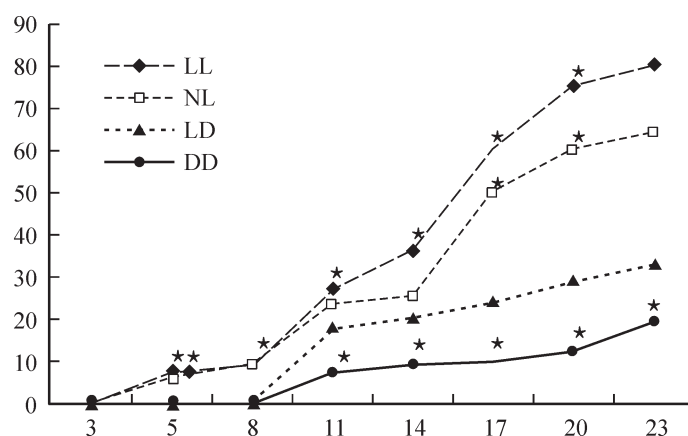


Рис. 8.6. Возрастная динамика частоты иррегулярных циклов у самок крыс, содержащихся при различных режимах освещения.

По оси абсцисс — возраст, мес.; по оси ординат — количество животных, %. LD — стандартный режим освещения, LL — постоянный режим освещения, NL — естественное освещение, DD — световая депривация.

Если эпифиз — солнечные часы организма, то, очевидно, любые изменения длительности светового дня должны существенным образом сказываться на его функциях и в конечном счете на скорости его старения. Циркадианный ритм весьма важен не только для временной организации физиологических функций организма, но и для продолжительности его жизни. Установлено, что с возрастом нейронная активность СХЯ гипоталамуса снижается, при этом при содержании в условиях постоянного освещения эти нарушения развиваются быстрее (Watanabe et al., 1995). Старые животные резистентны к действию клоргиллина, стимулирующему биосинтез мелатонина в условиях круглосуточного освещения; таким же эффектом обладает разрушение СХЯ гипоталамуса (Oxenkrug, Requintina, 1998). В ряде работ было показано, что нарушение фотопериодов может приводить к существенному уменьшению продолжительности жизни животных (Pittendrigh, Minis, 1972; Pittendrigh, Daan, 1974; Виноградова и др., 2007; Anisimov et al., 2004; Москалев и др., 2006).

Увеличение светового периода в течение дня (на 2—4 ч) приводит у грызунов к увеличению продолжительности эстрального цикла и в некоторых случаях к его нарушению. Если воздействие света увеличить до 24 ч в сутки, у большинства мышей и крыс в короткие сроки развивается синдром персистирующего эструса. В физиологических условиях этот синдром развивается в более позднем возрасте (у крыс — обычно между 15 и 18 месяцев жизни) и затем переходит в анэструс, который является физиологическим эквивалентом климактерического синдрома у женщин (рис. 8.6). В яичниках у крыс с персистирующим эструсом обнаруживают фолликулярные кисты и гиперплазию тека-ткани яичника, в них отсутствуют желтые тела (Лазарев и др., 1976; Prata Lima et al., 2004; Виноградова, Чернова,



2006, 2007). Вместо циклической продукции гонадотропинов, пролактина, эстрогенов и прогестерона, характеризующей нормальный репродуктивный период, эти гормоны секретируются ациклически, что приводит к гиперпластическим процессам в молочных железах и матке.

Lin и соавт. (1990) показали, что воздействие света ночью укорачивает продолжительность менструального цикла у женщин с длинным (более 33 дней) циклом. 60 % медицинских сестер с регулярным менструальным циклом и постоянными ночными сменами имели менструальный цикл короче 25 дней. Около 70 % обследованных медицинских сестер жаловались на редкие или частые дисменореи (Chung et al., 2005).

У крыс с персистирующим эструсом обнаруживается снижение толерантности к глюкозе и чувствительности к инсулину, глюкозурия, накопление висцерального жира и другие проявления метаболического синдрома (Виноградова, 2007). Установлено, что постоянное освещение приводит к увеличению порога чувствительности гипоталамуса к ингибирующему действию эстрогенов у самок крыс (Dilman, Anisimov, 1979). Этот механизм является ключевым в старении репродуктивной системы как у самок крыс, так и у женщин (Dilman, 1971; Dilman, Anisimov, 1979; Анисимов, 2003).

Итак, влияние света ночью приводит к ановуляции и ускорению связанного с возрастом выключения репродуктивной функции у грызунов, и к дисменорее у женщин. При этом важно отметить, что старые животные более чувствительны к изменениям фотопериода по сравнению с молодыми (Djeridane et al., 2005). У женщин постменопаузального возраста свет ночью сильнее подавляет уровень мелатонина в крови по сравнению с молодыми.

Воздействие постоянного света увеличивает перекисное окисление липидов (ПОЛ) в тканях животных и уменьшает общую антиокислительную и супероксиддисмутазную активности, тогда как применение мелатонина вызывает снижение активности ПОЛ, особенно в головном мозге (Москалев и др., 2006; Илюха и др., 2005; Виноградова и др., 2006). Следует отметить, что плодовые мухи-мутанты с низкой способностью обезвреживать свободные радикалы и устранять повреждения ДНК характеризуются более выраженной разницей между продолжительностью жизни в темноте и на свету по сравнению с линией дикого типа (Москалев и др., 2006). Авторы полагают, что увеличение продолжительности жизни в темноте происходит за счет снижения образования свободных радикалов и, как следствие, уменьшение повреждения ДНК.

В 1964 г. W. Johle сообщил, что количество спонтанных опухолей молочной железы и обусловленных ими смертей у СЗН-А мышей, подвергнутых постоянному освещению, значительно больше, чем мышей этой же линии, содержащихся при обычном режиме освещения. Развитие гиперпластических процессов и мастопатий было зарегистрировано у 78—88 % аутбредных крыс-самок через 7 месяцев после начала воздействия постоянного освещения (Лазарев и др., 1976). Воздействие постоянного освещения у трансгенных мышей-самок HER-2/neu сопровождалось увеличением множественности аденокарцином молочной железы по сравнению с группой

стандартного освещения (Baturin et al., 2001). Следует отметить, что эффект постоянного освещения был пропорционален интенсивности освещения. Постоянное освещение, начатое в возрасте 30 дней, приводило к ускорению развития спонтанных аденокарцином эндометрия у крыс BDI/Han (Deerberg et al., 1997). Воздействие постоянного освещения значительно ускорило возрастные нарушения эстральной функции и существенно усиливало спонтанный канцерогенез у мышей CBA (Anisimov et al., 2004).

В наших опытах (Виноградова и др., 2007) самцы и самки крыс в возрасте 25 дней были разделены в случайном порядке на 4 группы и содержались в различных световых режимах. Первая группа крыс находилась в условиях фиксированного стандартного чередующегося режима освещения (12 часов свет/12 часов темнота; LD) — освещенность 750 лк на уровне клеток. Вторая группа животных находилась в условиях естественного освещения (NL), учитывались особенности годовой фотопериодичности Северо-Запада России (Петрозаводск). При данном режиме освещенность определялась сезоном года: зимой минимальная продолжительность дня составляла 4.5 часа, а летом продолжительность светового дня достигала 24 часов («белые ночи»). Освещенность в помещении менялась в течение суток (на уровне клеток в утренние часы 50—200 лк, днем — до 1000 лк в ясный день и 500 лк в пасмурный день, к вечеру — от 150 до 500 лк). Третья группа крыс содержалась при круглосуточном постоянном (LL) освещении люминесцентными лампами (750 лк на уровне клеток). Крысы 4-й группы находились в условиях постоянной темноты. Красный свет включался только при уборке помещения и кормлении животных.

У животных в 3-, 6-, 12-, 18- и 24-месячном возрасте брали кровь для проведения биохимических исследований. Определяли содержание свободного трийодтиронина, свободного тироксина и тиреотропного гормона, С-пептида и пролактина, содержание глюкозы, бета-липопротеидов; общего белка, холестерина, креатинина, мочевины, концентрации ионов натрия и калия. Суммарную динамику изменений изучаемых показателей оценивали по коэффициенту стабильности гомеостаза (КСГ), который представляет собой отношение общего числа биохимических и эндокринологических показателей, соответствующих значениям у зрелых крыс в возрасте 3 месяцев, к общему числу изучаемых показателей.

В 6-месячном возрасте КСГ был практически на одном уровне во всех экспериментальных группах. С возрастом величина КСГ снижалась во всех группах, причем наиболее существенно это снижение наблюдалось в группах крыс, содержавшихся при постоянном освещении (LL). В возрасте 24-х месяцев КСГ у крыс в этой группе был достоверно ниже, чем во всех остальных группах (рис. 8.7).

Как можно судить по данным, представленным в табл. 8.3, содержание самок крыс в условиях естественного светового режима (NL) и постоянного освещения (LL) на 13.5 и 25.5 % соответственно уменьшало среднюю продолжительность жизни животных, и соответственно на 9 и 7 месяцев максимальную продолжительность их жизни по сравнению с группой крыс, со-

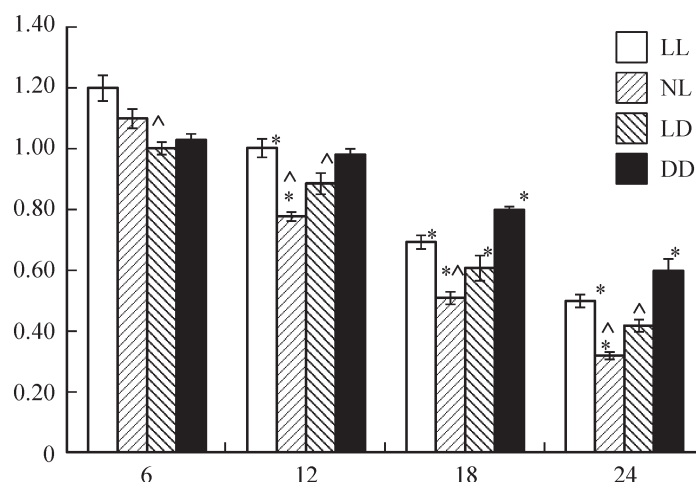


Рис. 8.7. Динамика коэффициента стабильности гомеостаза у самок крыс при различных режимах освещения.

По оси абсцисс — возраст, мес.; по оси ординат — условные единицы. Обозначения групп — как на рис. 8.6. Различия с группой LD в соответствующем месяце статистически достоверны, <sup>^</sup> —  $p < 0.05$ ; различия со значениями в шестимесячном возрасте статистически достоверны, \* —  $p < 0.05$ .

державшихся при стандартном режиме освещения (LD). На рис. 8.8 можно видеть, что кривые выживаемости для крыс групп NL и LL существенно смещены влево по отношению к кривой выживаемости для крыс группы LD. Различия в кривых выживаемости между группами LD и NL достоверны с уровнем  $p = 0.0000243$ ;  $\chi^2 = 22.2$  в log-rank тесте; между группами LD и LL:  $p = 0.0000162$ ;  $\chi^2 = 23.0$  и между LD и DD:  $p = 0.0741$ ;  $\chi^2 = 3.2$ . Многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA-test) выявил зависимость продолжительности жизни от режимов освещения (15.45 %;  $F = 15.32$ ;  $p < 0.001$ ).

Расчеты параметров популяционной скорости старения показали, что в условиях естественного режима освещения популяционная скорость старения крыс (коэффициент  $\alpha$ ) увеличивается в 2.1 раза по сравнению с контролем и соответственно уменьшается время удвоения силы смертности (MRDT). Постоянное освещение и световая депривация не влияли достоверно на кинетические параметры популяционного старения.

Данные, представленные в табл. 8.3, свидетельствуют о том, что нарушение светового режима оказывает статистически значимое модифицирующее влияние на развитие спонтанных опухолей у самок крыс. Так, в группе крыс, содержащихся в условиях естественного режима освещения (NL), достоверно ( $p < 0.05$ ) увеличивалась частота развития новообразований по сравнению с контрольной группой (LD), главным образом за счет двукратного увеличения частоты развития доброкачественных опухолей молочной железы. Следует отметить, что в группе NL было выявлено 3 случая аденокарцином матки, тогда как в группе LD развития таких опухолей не наблюдалось.

**Таблица 8.3**  
**Влияние светового режима на продолжительность жизни**  
**и развитие спонтанных опухолей у самок крыс (Виноградова и др., 2007)**

Параметры	Световой режим			
	Стандартное освещение (LD)	Естественное освещение (NL)	Постоянное освещение (LL)	Световая депривация (DD)
Число крыс	40	48	54	61
СПЖ, сут.	706 ± 46.2	611 ± 29.5	526 ± 30.4 <sup>б</sup>	639 ± 30.1
Максимальная ПЖ, сут.	1167	897	956	1266
СПЖ последних 10 % крыс, сут.	1119 ± 16.7	830 ± 18.9	909 ± 19.1 <sup>в</sup>	1023 ± 56.0
$\alpha \times 10^3$ , сут. <sup>-1</sup>	5.00 (4.73; 5.30) <sup>#</sup>	10.5 (10.3; 11.2) <sup>а</sup>	5.21 (5.13; 5.35)	4.88 (4.86; 4.97)
MRDT, дней	138.6 (130.8; 146.6)	65.8 (61.7; 67.0) <sup>а</sup>	133.1 (129.6; 135.1)	142.0 (139.4; 142.5)
Число крыс с опухолями, %	21 (52.5 %)	34 (70.8 %) <sup>а</sup>	24 (44.4 %)	15 (24.6 %) <sup>в</sup>
Множественность опухолей	1.38	1.41	1.63	1.07
Число крыс со злокачественными опухолями, %	5 (12.5 %)	7 (14.6 %)	7 (13.0 %)	3 (4.9 %)
Общее число опухолей	29	48	39	16
Время обнаружения 1-й опухоли, сут.	207	365	186	186
СПЖ крыс с опухолями, сут.	769 ± 63.0	683 ± 22.9 <sup>б</sup>	665 ± 40.3	720 ± 64.3
СПЖ крыс со злокачественными опухолями, сут.	1098 ± 21.8	688 ± 56.8 <sup>в</sup>	647 ± 79.8 <sup>в</sup>	809 ± 130.5 <sup>а</sup>
<b>Локализация и тип опухолей</b>				
Молочная железа:				
фиброаденома	15	30	21	5
аденокарцинома	—	—	1	—
Матка:				
полип	4	1	4	5
фиброма	1	2	2	—
аденокарцинома	—	3	1	—
стромогенная саркома	—	—	—	1
Маточные трубы: фиброма	—	3	—	—
Надпочечники:				
аденома	1	1	3	1
рак	—	—	—	1
феохромочитома	2	—	—	—
Кровотворная ткань:				
лейкоз	2	1	1	—
злокачественная лимфома	1	1	3	—
Прочие:				
доброкачественные	1	2	2	2
злокачественные	2	4	1	1
Всего опухолей:				
доброкачественных	24	39	32	13
злокачественных	5	9	7	3

Примечание. СПЖ — средняя продолжительность жизни. Различие с контролем (LD) достоверно: а —  $p < 0.05$ ; б —  $p < 0.01$ ; в —  $p < 0.001$ . # — в скобках 95 % доверительные интервалы.

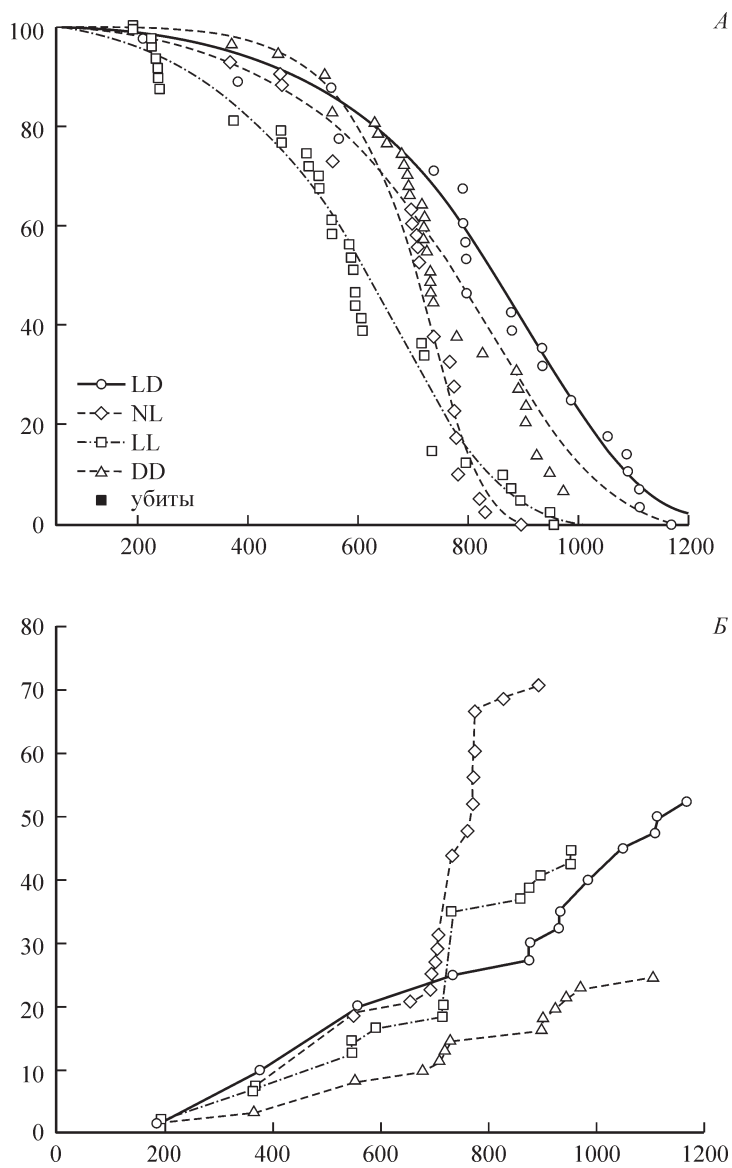


Рис. 8.8. Влияние режима освещения на продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самок крыс.

*A* — кривые выживаемости. По оси абсцисс — возраст, сут.; по оси ординат — количество крыс, %. *B* — кривые возникновения опухолей. По оси абсцисс — возраст, сут.; по оси ординат — количество крыс с опухолями, %. Обозначения групп — как на рис. 8.6.

Таблица 8.4

## Влияние светового режима на показатели продолжительности жизни самцов крыс (Виноградова и др., 2008)

Параметры	Световой режим			
	Стандартное освещение (LD)	Естественное освещение (NL)	Постоянное освещение (LL)	Световая депривация (DD)
Число крыс	57	50	50	51
СПЖ, сут.	644 ± 34.0	613 ± 32.9	580 ± 35.5	652 ± 32.5
Максимальная ПЖ, сут.	1045	1046	1005	1017
СПЖ последних 10 % крыс, сут.	999 ± 11.5	972 ± 22.7	983 ± 13.8	987 ± 13.0
$\alpha \times 10^3$ , сут. <sup>-1</sup>	6.06 (5.87; 6.47)	6.70 <sup>a</sup> (6.50; 6.97)	5.19 <sup>a</sup> (4.89; 5.57)	8.31 <sup>a</sup> (8.10; 8.54)
MRDT, дней	112.4 (107.1; 118.1)	103.4 (102.7; 111.6)	133.6 <sup>a</sup> (124.4; 141.7)	83.4 <sup>a</sup> (81.2; 85.5)
Число крыс с опухолями, %	17 (29.8 %)	11 (22 %)	13 (26 %)	11 (21.6 %)
Множественность опухолей	1.35	1.18	1.08	1.36
Число крыс со злокачественными опухолями, %	7 (12.3 %)	6 (12 %)	10 (20 %)	5 (9.8 %)
Общее число опухолей	23	13	14	15
Время обнаружения 1-й опухоли, сут.	379	367	223	659
СПЖ крыс с опухолями, сут.	824 ± 49.0	782 ± 57.6	688 ± 73.2	805 ± 32.3
СПЖ крыс со злокачественными опухолями, сут.	794 ± 72.4	738 ± 95.6	701 ± 76.0	766 ± 49.5

## Локализация и тип опухолей

Тестикулы:				
лейдигома	7	6	4	6
кавернозная гемангиома	1	—	—	—
Злокачественная лимфома/лейкоз	3	4	6	3
Печень:				
гепатоцеллюлярный рак	2	—	2	—
Кожа: папиллома	1	—	—	—
Мягкие ткани:				
фиброма	—	—	—	1
саркома	1	2	—	1
злокачественная фиброзная гистиоцитома	2	—	—	—
Легкое:				
аденокарцинома	—	—	1	—
светлоклеточный рак	1	—	—	—
Тонкая кишка:				
аденокарцинома	—	—	1	—

Таблица 8.4 (продолжение)

Параметры	Световой режим			
	Стандартное освещение (LD)	Естественное освещение (NL)	Постоянное освещение (LL)	Световая депривация (DD)
Надпочечники:				
аденома коры	3	1	—	3
феохромоцитомы	1	—	—	—
злокачественная феохромоцитомы	—	—	—	1
Уретра:				
фиброма	1	—	—	—
Всего:				
доброкачественных опухолей	14	7	4	10
злокачественных опухолей	9	6	10	5

Примечание. СПЖ — средняя продолжительность жизни. Различие с контролем (LD) достоверно: а —  $p < 0.05$ .

Напротив, содержание крыс в условиях световой депривации (DD) существенно угнетало развитие всех опухолей, главным образом опухолей молочной железы, по сравнению с контролем. Постоянное освещение (LL) не влияло достоверно на общую частоту развития спонтанных опухолей у самок крыс. Однако на рис. 8.3 хорошо видно, что в то время как естественный режим освещения и постоянное освещение оказывают промотирующее влияние на развитие всех или только злокачественных опухолей, световая депривация угнетает спонтанный канцерогенез у самок крыс. В long-rank тесте различия между кривыми динамики развития всех или только злокачественных опухолей между контролем и всеми другими группами высоко достоверны,  $p < 0.001$ .

Наибольший показатель множественности опухолей (число опухолей на 1 крысу-опухоленосителя) был в группе NL (1.63), а минимальным — в группе DD (1.07), наибольшее количество новообразований было отмечено в группе крыс, находящихся в режиме LL (68.8 %), а минимальное — в режиме DD (18.0 %); фатальные злокачественные неоплазмы наиболее часто развивались у крыс в режиме NL, реже всего — в режиме DD. Имеется также корреляция со временем обнаружения первой опухоли: наиболее кратковременный период отмечался в режиме LL (186 дней), тогда как наиболее длительный — в режиме световой депривации (551 день).

Близкие результаты были получены в опытах на самцах (табл. 8.4, рис. 8.9) (Виноградова и др., 2008).

Анализ полученных данных указывает на отрицательное влияние постоянного и естественного освещений на показатели гомеостаза самок крыс, что согласуется с результатами ряда исследований о связи эпифиза с эндокринной регуляцией обменных процессов (Комаров и др., 2004; Turek et al., 2005). Снижение толерантности к глюкозе, повышение уровня общих липидов, неэстерифицированных жирных кислот и холестерина, перерас-

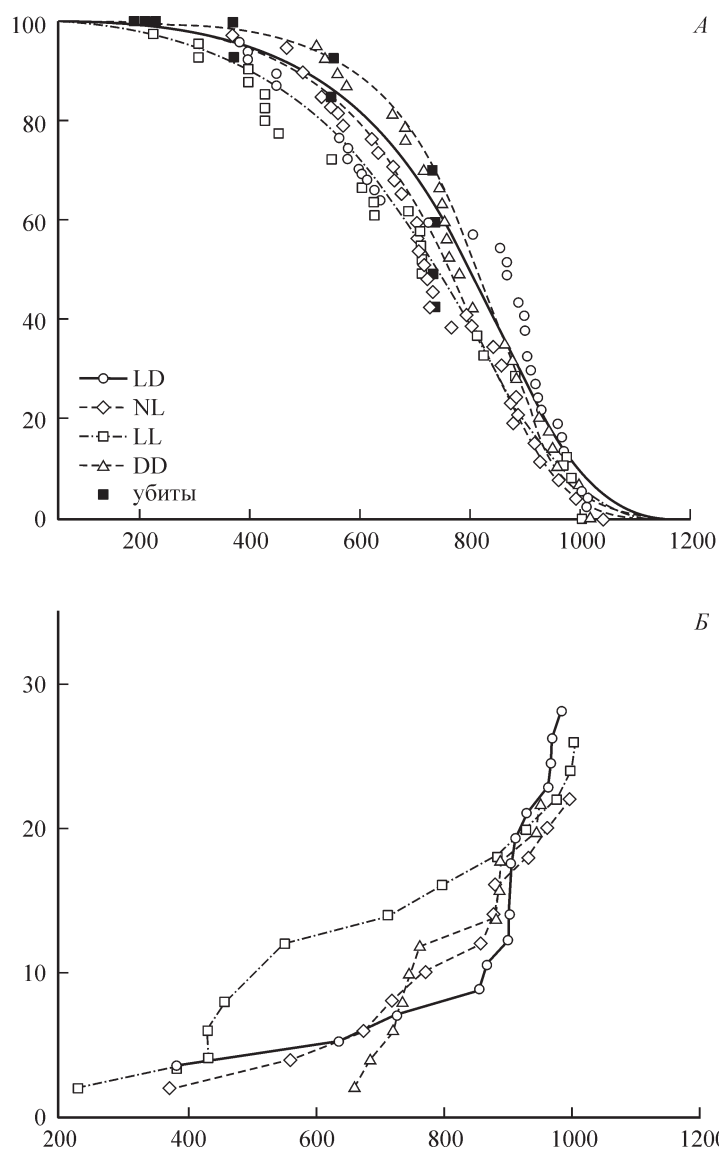


Рис. 8.9. Влияние режима освещения на продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самцов крыс.

Обозначения те же, что и на рис. 8.8.

пределение фракций свободного и связанного инсулина наблюдалось у пинеалэктомированных животных (Анисимов и др., 1997). Метаболический синдром, проявляющийся ожирением, гиперлипидемией, гиперлептинемией, печеночным стеатозом, гипергликемией, и гиперинсулинемией, обнаруживался у гомозиготных мышей с мутацией гена *Clock* (Turek et al., 2005).



Влияние изменения фотопериода в виде постоянного освещения на физиологические процессы организма описано многими исследователями (Anisimov, 2006). Показано, что это приводит к ускоренному старению эпифиза (Губина-Вакулик и др., 2007) и угнетению продукции им мелатонина (Anisimov, 2006).

На Северо-Западе России наблюдается своеобразный фотопериодизм, проявляющийся длинным световым днем в весенне-летний период (особенно с середины мая до середины июля — сезон «белых ночей») и короткой продолжительностью дня в осенне-зимний период (4—5 ч). Естественное нарушение циркадианного ритма в виде сезонных колебаний освещенности изучено недостаточно. Возможно, что нарушаются те периодические процессы, которые направлены на приспособление организма к циклическим изменениям окружающей среды, что и приводило к более быстрому снижению коэффициента стабильности гомеостаза, т. е. к более быстрому старению организма по сравнению с КСГ, полученным в условиях регулярно чередующегося освещения. Угнетение функции эпифиза во время «белых ночей» ведет к нарушению функционирования «биологических часов» организма, основной функцией которых является «подстройка» биологических ритмов функционирования организма к циклу «свет—темнота» (Анисимов и др., 2002; Анисимов, Виноградова, 2006). Таким образом, можно сказать, что у крыс-самок, подвергнутых длительному постоянному освещению или находящихся в условиях естественного нарушения светового режима, темп старения более высокий, чем у животных, находящихся в условиях фиксированного чередования света и темноты.

И. К. Хаецкий (1965) впервые сообщил о стимулирующем влиянии постоянного освещения на вызванный введением 7,12-диметилбенз(а)антрацена (ДМБА) канцерогенез молочных желез у беспородных крыс. При содержании животных с момента рождения при постоянном или стандартном режимах освещения количество аденокарцином молочных желез у крыс, получивших 20 мг ДМБА внутрь в возрасте 55 дней, составило соответственно 95 и 60 % (Kothari et al., 1982; Kothari, 1987). Применение мелатонина существенно угнетало развитие индуцированных ДМБА опухолей в обеих изучаемых группах.

Введение N-нитрозометилмочевина (НММ) крысам, содержащимся при стандартном режиме освещения, сопровождалось развитием аденокарцином молочных желез у 55 % крыс. Воздействие постоянного освещения значительно увеличивало количество аденокарцином молочных желез и уменьшало латентный период развития этих карцином. У крыс, находящихся в условиях постоянного освещения, отмечался ночной подъем уровня пролактина и уменьшался уровень мелатонина в сыворотке крови по сравнению с аналогичными показателями, определяемыми у крыс, содержащихся в условиях стандартного освещения (Бениашвили и др., 1993). Эти данные согласуются с другими наблюдениями относительно стимулирующего эффекта постоянного освещения на канцерогенез молочных желез, индуцированный ДМБА или НММ (табл. 8.5).

**Таблица 8.5**  
**Сведения о стимулирующем влиянии постоянного освещения**  
**на развитие опухолей у грызунов**

Вид	Линия	Канцероген	Развивающиеся опухоли	Авторы
Мыши	СЗН-А	Спонтанные опухоли	Аденокарцинома молочной железы	Johle, 1964
	СВА	То же	Аденокарцинома легкого; лейкоз; гепатокарцинома	Anisimov et al., 2004
	FVB/N	HER-2/neu*	Аденокарцинома молочной железы	Baturin et al., 2001
Крысы	Беспородные	Спонтанные опухоли	Аденокарцинома и фиброаденома молочной железы; фиброзные полипы эндометрия	Лазарев и др., 1976
	BDII/Han	То же	Аденокарцинома эндометрия	Deerberger et al., 1997
	ЛИО	» »	Аденокарцинома и фиброаденома молочной железы; фиброзные полипы эндометрия	Виноградова и др., 2007
	Беспородные	ДМБА	Аденокарцинома молочной железы, гранулезоклеточная опухоль яичников	Хаецкий, 1965
	Sprague-Dawley	То же	Аденокарцинома и фиброаденома молочной железы; опухоли яичников	Hamilton, Sneddon, 1968
	»	» »	Аденокарцинома молочной железы	Kothari, 1988; Cos et al., 2006
	Holtzman	» »	То же	Kothari, 1988; Kothari et al., 1982
	Wistar	НММ	» »	Бенишвили и др., 1993
	»	НДЭА	Гепатоцеллюлярная карцинома	Van den Heiligenberg et al., 1999
	»	НЭМ трансплантируемо	Опухоли нервной системы, мезенхимальные опухоли почек	Benishvili et al., 2000
ЛИО	ДМГ	Аденокарцинома толстой кишки	Панченко, 2005	

Примечание. \* — онкоген HER-2/neu, инкорпорированный в качестве трансгена у мышей FVB/N.

Самкам крыс линии Sprague-Dawley вводили однократно ДМБА (20 мг) в возрасте 55 дней и после этого размещали в помещениях со стандартным или постоянным режимом освещения (Cos et al., 2006). Животные, помещенные в условия постоянного освещения, показали значительно более высокие темпы роста опухоли, чем животные, находящиеся в чередующемся фотопериоде. Ночная экскреция с мочой метаболита мелатонина 6-сульфат-мелатонина при постоянном режиме освещения была значительно уменьшена по сравнению с аналогичным показателем у крыс группы контроля.

Нарушение циркадных ритмов организма при помощи постоянного воздействия света оказывало стимулирующий эффект на канцерогенез в печени, индуцируемый N-нитрозодиэтиламиноом (НДЭА) у крыс (van den Heiligenberg et al., 1999). Постоянное освещение оказывало стимулирующее влияние также на трансплацентарный канцерогенез, индуцируемый N-нитрозоэтилмочевинной (НЭМ) (Beniashvili et al., 2001). А. В. Панченко (2005) наблюдал существенное увеличение количества аденокарцином в восходящем и нисходящем отделах толстой кишки при введении 1,2-диметилгидразина (ДМГ) крысам в условиях постоянного освещения по сравнению с количеством аналогичных опухолей у крыс, содержащихся в условиях стандартного освещения и также получивших инъекции ДМГ.

Таким образом, постоянное освещение обладает активирующим влиянием на развитие спонтанного и химически индуцированного канцерогенеза у грызунов.

Воздействие постоянного освещения (300 лк или 0.2 лк) уменьшало ночной пик уровня мелатонина и увеличивало темп роста перевиваемой гепатомы 7288СТС у крыс (Jasser et al., 2006). Если темнота в ночное время прерывалась включением белого света в 300 лк, крысы с трансплантированными клетками рака молочной железы человека (линия MCF-7) имели более низкую ночную концентрацию мелатонина в сыворотке крови и карцинома у них развивалась быстрее, чем у крыс, находящихся в условиях нормального чередования света и темноты (Blask et al., 2003). Постоянное освещение стимулировало рост перевиваемой карциномы Эрлиха у мышей (Bartsch, Bartsch, 2006). Чередование каждые 3 дня фотопериодов 14 часов свет: 10 часов темнота, наоборот, 10 часов темнота: 14 часов свет у мышей с привитой карциномой Эрлиха или саркомой-180 сопровождалось сокращением времени выживания, ускорением роста опухоли и депрессией иммунной системы по сравнению с аналогичными параметрами у животных, содержащихся при постоянном фотопериоде 12 часов свет: 12 часов темнота или 14 часов свет: 10 часов темнота (Li, Xu, 1997).

Мыши с полной мутацией гена *Per2*, приводящей к нарушению циркадианного ритма, имели повышенную восприимчивость к развитию лимфом после воздействия  $\gamma$ -радиации (Fu et al., 2002). Было также показано, что эти мыши более склонны к спонтанному развитию опухолей по сравнению с контрольными животными.

Остеосаркома Глазго (GOS) или панкреатическая аденокарцинома P03 была пересажена интактным самцам мышей линии B6DF1 или самцам мы-

шей с двусторонним электрическим разрушением СХЯ гипоталамуса (Filip-ski et al., 2005). Рост опухолей был быстрее у мышей с поврежденными СХЯ, чем у ложнопериоперированных мышей. Разрушение СХЯ являлось главной причиной нарушения циркадианной ритмики кортикостерона и ритма деления лимфоцитов у этих мышей.

В клинических исследованиях отмечено, что сохраненный 24-часовой ритм активности связан с более длительным выживанием пациентов с метастатическим раком толстой кишки (Mormont et al., 2000). Недавно были выявлены нарушения экспрессии трех часовых генов (*PER1*, *PER2*, *PER3*) в большинстве (<95 %) клеток рака груди вместе с близлежащими незлокачественными клетками у женщин (Chen et al., 2005). Это может привести к нарушению контроля над нормальным циркадианным ритмом и таким образом увеличить выживание раковых клеток и усилить канцерогенез.

Данные, полученные на крысах и людях, показывают, что опухоли и имеющие опухоль особи могут иметь значительно измененные циркадиан-ные ритмы (Canaple et al., 2003; Mormont, Levi, 1997; Reddy et al., 2005). Мы наблюдали существенное нарушение циркадианного ритма мелатонина в сыворотке крови, активности пинеалоцитов и содержания биогенных аминов в СХЯ гипоталамуса и преоптической области у крыс, имеющих рак толстой кишки, вызванный 1,2-диметилгидразином (Анисимов и др., 2000).

В настоящее время пока не ясно, уникален ли *mPer2* в качестве «супрес-сора опухоли» или имеются другие часовые гены, выполняющие подобную противоопухолевую функцию в естественных условиях (Reddy et al., 2005). Механизм подавления роста опухоли также пока не ясен, но имеется важ-ное наблюдение — раковые ткани определенно связаны со специальными часовыми генами. Экологические и генетические факторы, которые по-вреждают системный и/или местный циркадианный ритм, могут ставить под угрозу временное регулирование деления клеток (Matsuo et al., 2003) и таким образом усиливать рост опухоли (Fu, Lee, 2003; Reddy et al., 2005).

В настоящее время в некоторых отраслях промышленности число рабо-тающих посменно людей довольно значительно. Общее количество рабо-чих, имеющих ночную работу или работу по сменам, достигает 20 % в США (Monk, 2000) и 15—20 % от общего количества работающих в боль-шинстве стран Европейского экономического сообщества (Tenkane et al., 1997). Очевидные проблемы со здоровьем среди сменных рабочих включа-ют нарушения сна, желудочно-кишечные заболевания, увеличение случаев сердечно-сосудистых заболеваний, нарушение метаболизма и толерантно-сти к липидам и, возможно, увеличение случаев развития диабета (Steen-land, Fine, 1996; Tenkane et al., 1997; Di Lorenzo et al., 2003; Knutsson, 2003; Ha, Park, 2005; Kubo et al., 2006). Показано, что ожирение, высокий уровень триглицеридов и низкая концентрация холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛВП) обнаруживаются в этой группе чаще, чем у рабочих днев-ных смен (Knutsson, Boggild, 2000). С другой стороны, имеются доказатель-ства, показывающие, что метаболический синдром, который представлен ожирением, высоким уровнем триглицеридов и холестерина, липопротеи-

нов низкой плотности, гипертонией, сниженной фибринолитической активностью крови, сниженной толерантностью к глюкозе, является не только фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, но и фактором риска возникновения злокачественных опухолей (Dilman, 1994).

Сообщают о гораздо большем количестве смертей от злокачественных новообразований у сменных рабочих, которые работали на производстве не менее 10 лет, по сравнению с рабочими, занятыми только в дневные смены (Taylor, Rosock, 1972). В Дании в большом контролируемом рандомизированном исследовании (около 7000 обследуемых в каждой группе) было показано, что занятие вечерней работой достоверно увеличивает риск развития РМЖ у женщин в возрасте от 30 до 54 лет (Hansen, 2001, 2006). Среди работающих ночью наиболее достоверные результаты были обнаружены у официантов ресторанов, работающих в ночные смены (300 случаев). Подобные наблюдения были сделаны при обследовании стюардесс в большом когортном исследовании риска РМЖ в Финляндии (Pukkala et al., 1995). У калифорнийских стюардесс РМЖ встречался на 30 % чаще, и злокачественная меланома обнаруживалась в 2 раза чаще по сравнению с другим населением Калифорнии (Reynolds et al., 2002). С другой стороны, в недавнем контролируемом исследовании не было получено никаких убедительных доказательств, что риск РМЖ среди финских стюардесс выше, чем у других женщин (Kojo et al., 2005).

S. Davis и соавт. (2001) сообщили о результатах контролируемого исследования женщин в возрасте от 20 до 74 лет в Сиэтле (США). Изучались следующие три параметра: 1) сменная работа, с имеющимся уровнем окружающего освещения; 2) освещение в спальне ночью и 3) степень бессонницы (активность между 1 и 2 часами ночи). В результате было обнаружено небольшое увеличение риска развития РМЖ, связанного со сменной работой и со степенью бессонницы. Наибольший разброс данных наблюдался при сопоставлении данных, касающихся освещения в спальне ночью, о котором сообщали сами исследуемые.

Обзор, представленный E. Schernhammer с соавт. (2001), основан на данных изучения состояния здоровья медицинских сестер, включавших в себя вопросы о стаже, сменной работе, дневных, ночных и вечерних сменах. Среди медсестер, имеющих стаж более 30 лет и сменную работу, относительный риск РМЖ составлял 1.36 по сравнению с медицинскими сестрами, которые не работали посменно. У медсестер, длительно работающих в ночные смены, был найден сниженный уровень мелатонина и повышенный уровень эстрогенов в крови (Schernhammer et al., 2004; Schernhammer, Hankinson, 2005). S. P. Megdal с соавт. (2005) провели систематический обзор и метаанализ имеющихся исследований, которые касаются изучения влияния ночной работы на риск развития РМЖ. Проведенный метаанализ, основанный на 13 исследованиях, включающих 7 исследований работников авиалиний и 6 исследований других профессий, работающих в ночные смены, показал, что общая оценка риска равнялась 1.48. Существенный риск развития РМЖ имели летный состав авиалиний и женщины, работающие в ночные смены.

Исследование, объектом которого были данные о здоровье 44 835 медицинских сестер в Норвегии, показало, что показатель дополнительного риска РМЖ у работавших по ночам в течение 30 и более лет составил 2.21 (CI = 1.10—4.45;  $p_{\text{trend}} = 0.01$ ) (Lie et al., 2006). Увеличенный риск РМЖ и рака толстой кишки был обнаружен у длительно работавших по ночам жителей Сиэтла (Davis, Mirik, 2006).

Т. Tynes с соавт. (1996) сообщили об увеличенном риске рака толстой и прямой кишки у женщин, работающих на радио и телеграфе. E. Schernhammer и соавт. (2003), рассмотрев гарвардские данные по изучению состояния здоровья 78 586 медсестер, обнаружили, что медсестры, работающие в ночные смены, имеют более высокий риск РМЖ. Авторы также нашли, что рак толстой и прямой кишки встречается чаще у рабочих, имеющих не менее 3 ночных смен в месяц в течение 15 лет и более. Повышенный риск злокачественных лимфоидных опухолей был обнаружен среди исландских стюардесс (Rafnsson et al., 2001). Сообщают об увеличении риска возникновения рака простаты у скандинавских пилотов авиалиний в зависимости от количества продолжительных рейсов (Pukkala et al., 2002). Таким образом, механизмы, лежащие в основе увеличенного риска рака среди ночных рабочих и летных экипажей, возможно схожи. Вероятно, нарушение циркадианных ритмов и вынужденное воздействие света в ночное время приводят к уменьшению выработки мелатонина, являющегося основным биологическим блокатором развития злокачественных новообразований (Fu, Lee, 2003; Pauley, 2004; Stevens 2006).

## 8.10. ТЕМНОТА, СТАРЕНИЕ И РАК

Отметим парадокс природы  
Короче дни, коль ночь бела —  
Но прибавляют наши годы,  
Без света ночь и темнота.

В. А. Часы жизни

Если свет, подавляющий продукцию мелатонина эпифизом, стимулирует преждевременное старение и развитие рака, то естественен вопрос, а как действует на эти процессы темнота? Было показано, что ослепленные крысы живут дольше зрячих (Lehrer, 1981). Хирургическая световая депривация увеличивала на 13.5 % среднюю и на 21 % максимальную продолжительность жизни трансгенных HER-2/neu мышей (Батурин и др., 2004). Содержание крыс в постоянной темноте замедляло возрастные изменения эстральной функции, не оказывало существенного влияния на продолжительность жизни и снижало частоту развития спонтанных опухолей у крыс (Виноградова, Чернова, 2006; Виноградова и др., 2007).

А. К. Кураласов (1990) изучал влияние темноты на рост и развитие опухолей молочных желез у крыс. Животные содержались в темном помеще-

нии (0—0.5 лк/см<sup>2</sup>) или при стандартном световом режиме (12 ч свет/12 ч темнота). Оказалось, что рост перевиваемого рака молочной железы в темноте существенно замедлялся. Введение канцерогена ДМБА крысам, которых содержали в темноте, индуцировало гораздо меньше опухолей молочной железы, чем у содержащихся при стандартном освещении. Продолжительность жизни крыс с опухолями молочной железы в группе, содержащейся в темноте, была в 2 раза большей, чем у животных в контрольной группе, находившейся в условиях стандартного светового режима. А. К. Кураласов установил также, что содержание животных в темноте усиливало противоопухолевый эффект таких препаратов, как синестрол, тамоксифен, андрогены, тио-ТЕФА, циклофосфамид, ЦМФ, тио-ТЕФА + синестрол. Результаты экспериментальных исследований позволили автору использовать этот подход для терапии больных РМЖ. Полная или частичная (>50 %) регрессия карциномы молочной железы наблюдалась у 32.4 % больных контрольной группы и у 78.6 % больных «темновой» группы. Имеются данные о тормозящем действии световой депривации на канцерогенез, индулируемый НММ у крыс (Жукова, Анисимов, 1994; Beniashvili et al., 1994).

Таким образом, опыты с грызунами и наблюдения клиницистов убедительно свидетельствуют об ингибирующем действии световой депривации на канцерогенез. Эпидемиологические данные также подтверждают такой вывод. R. Nahn (1991) сообщил о результатах анализа свыше 100 000 выписных эпикризов, опубликованных в Национальном госпитальном регистре. Риск развития рака молочной железы оказался в 2 раза меньшим у первично слепых женщин по сравнению со зрячими. В ряде исследований, выполненных в последние годы учеными Швеции и Финляндии, было обнаружено существенное снижение риска всех видов рака среди слепых, и этот уменьшенный риск является специфичным для рака молочной железы у женщин (Feychting et al., 1998; Verkasalo et al., 1999).

## 8.11. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, выходит, день нас старит,  
А ночью телом молодеем.  
Мы демографию поправим,  
Когда часами овладеем.

*В. А. Часы жизни*

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что эпифиз и система генерации и регуляции циркадианных ритмов в целом играют важную роль в механизмах гомеостаза и старения. Угнетение функции эпифиза, достигаемое эпифизэктомией или содержанием в условиях постоянного освещения (физиологическая эпифизэктомия) приводит к десинхронизации циркадианных ритмов многих физиологических функций организма, ускоренному старению ряда функциональных систем, развитию ряда ассо-

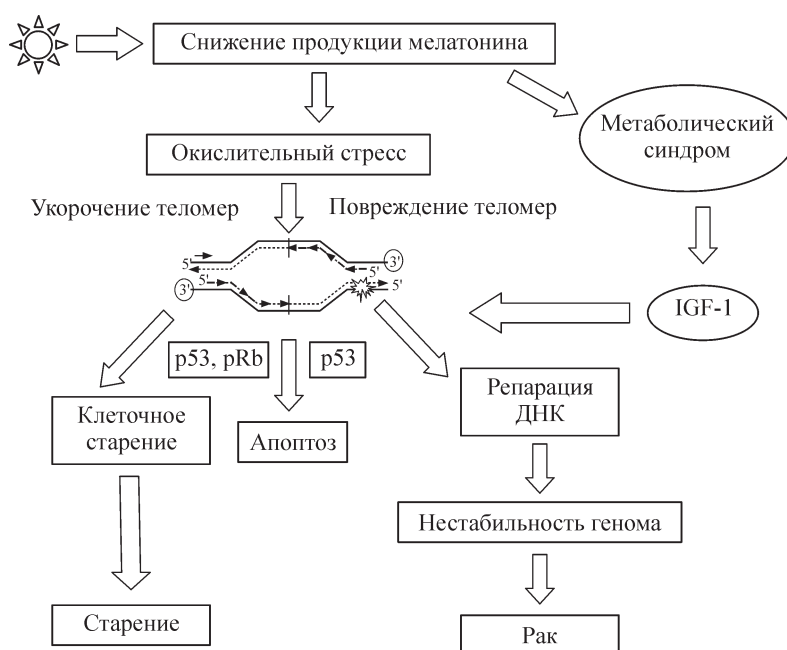


Рис. 8.10. Молекулярные механизмы влияния света и мелатонина на старение и рак.

Таблица 8.6

Основные этапы изучения роли эпифиза как «часов» старения

Год	Обнаруженное явление	Авторы
1958	Морфологические признаки инволюции эпифиза	Хелимский, 1958
1959	Эпифизэктомия уменьшает продолжительность жизни крыс	Malm et al., 1959
1960	Вытяжка из эпифиза увеличивает продолжительность жизни крыс	Пархон, 1960
1972	Полипептидный экстракт эпифиза снижает порог чувствительности гипоталамуса к ингибированию дексаметазоном	Остроумова, Дильман, 1972
1973	Полипептидный экстракт эпифиза снижает порог чувствительности гипоталамуса к ингибированию эстрогенами и восстанавливает репродуктивную функцию у старых крыс	Анисимов и соавт., 1973
1979	Полипептидный препарат эпифиза увеличивает продолжительность эстральной функции и на 25 % — среднюю продолжительность жизни (СПЖ) крыс	Dilman et al., 1979
1980—1981	Возрастное снижение синтеза и секреции мелатонина эпифизом	Reiter et al., 1980 Touitou et al., 1981



Таблица 8.6 (продолжение)

Год	Обнаруженное явление	Авторы
1982	Эпиталамин увеличивает на 31 % СПЖ самок мышей C3H/Sn	Anisimov et al., 1982
1987	Введение мелатонина старым мышам C57Bl на 20 % увеличивает их СПЖ	Pierpaoli, Maestroni, 1987
1990	Начало применения эпиталамина в гериатрической практике	Морозов, Хавинсон, 1996
	Эпиталамин увеличивает ночной синтез и секрецию мелатонина эпифизом у молодых и старых крыс	Anisimov et al., 1990
1991	Пересадка эпифиза в тимус старых мышей увеличивает их СПЖ	Pierpaoli et al., 1991
1993	Обнаружение свойств антиоксиданта у мелатонина	Tan et al., 1993
1994	Пересадка эпифиза от молодых мышей старым на место удаленного эпифиза увеличивает СПЖ	Lesnikov, Pierpaoli, 1994
1995	Обнаружение свойств антиоксиданта у эпиталамина	Анисимов и соавт., 1995
1997	Мелатонин и эпиталамин увеличивают СПЖ у <i>D. melanogaster</i>	Anisimov et al., 1997
2000	Синтез эпиталона	Khavinson et al., 2000
	Мутация в часовых генах Per1 и Per2 сокращает продолжительность жизни	Fu et al., 2000
2001	Эпиталон увеличивает СПЖ и максимальную ПЖ, замедляет старение репродуктивной функции у мышей CBA и обладает антиоксидантными свойствами	Anisimov et al., 2001
	Эпиталон восстанавливает ритм секреции мелатонина у старых обезьян	Khavinson et al., 2001
2002	Доказательства специфического действия мелатонина и эпиталона на экспрессию генов	Анисимов С. В. и соавт., 2002, 2002a
2003	Применение в течение 8 лет эпиталамина снижает смертность у пожилых людей	Коркушко и соавт., 2003, 2006
2007	Мелатонин индуцирует в ц.н.с. старых мышей профиль транскриптома, свойственный молодым животным	Perreau et al., 2007; Sharman et al., 2007

цированных с возрастом патологических процессов, включая злокачественные новообразования, и в конечном счете к уменьшению продолжительности жизни индивидуума (рис. 8.10). Световая депривация, стимулирующая функцию эпифиза, оказывает противоположный — геропротекторный эффект.

Данные о влиянии гормона эпифиза мелатонина и пептидных препаратов эпифиза на процесс старения и продолжительность жизни животных и человека будут рассмотрены в главе 15.

Основные этапы изучения роли эпифиза в старении приведены в табл. 8.6.

### Литература

- Алпатов А. М.* Циркадианный осциллятор // Хронобиология и хрономедицина / Под ред. Ф. И. Комарова и С. И. Рапопорта. М.: Триада-Х, 2000. С. 65—81.
- Анисимов В. Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003. 464 с.
- Анисимов В. Н.* Физиологические функции эпифиза (геронтологический аспект) // Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова. 1997. Т. 83. С. 1—13.
- Анисимов В. Н., Виноградова И. А.* Световой режим, мелатонин и риск развития рака // Вопр. онкол. 2006. Т. 53, № 5. С. 491—498.
- Анисимов В. Н., Кветной И. М., Комаров Ф. И. и др.* Мелатонин в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта. М.: Советский спорт, 2000. 184 с.
- Анисимов В. Н., Прокопенко В. М., Хавинсон В. Х.* Мелатонин и эпиталамин угнетают процесс свободнорадикального окисления у крыс // Докл. РАН. Т. 343. С. 557—559.
- Анисимов В. Н., Хавинсон В. Х., Морозов В. Г., Дильман В. М.* Снижение порога чувствительности гипоталамо-гипофизарной системы к действию эстрогенов под влиянием экстракта эпифиза у старых самок крыс // Докл. АН СССР. 1973. Т. 213. С. 483—486.
- Анисимов В. Н., Батурин Д. А., Айламазян Э. К.* Эпифиз, свет и рак молочной железы // Вопр. онкол. 2002. Т. 48, № 4—5. С. 524—535.
- Анисимов С. В., Богилер К. Р., Анисимов В. Н.* Изучение влияния мелатонина на экспрессию генов в сердце мышей с помощью микрочиповой технологии // Докл. РАН. 2002. Т. 383. С. 276—281.
- Анисимов С. В., Богилер К. Р., Хавинсон В. Х., Анисимов В. Н.* Изучение действия пептидов вилона и эпиталона на экспрессию генов в сердце мышцы с помощью технологии на основе микрочипов // Бюл. экспер. биол. мед. 2002а. Т. 133. С. 340—347.
- Арушанян Э. Б.* Участие эпифиза в антистрессовой защите мозга // Успехи физиол. наук. 1996. Т. 27, № 3. С. 31—50.
- Арушанян Э. Б.* Хронофармакология на рубеже веков. Ставрополь: Изд-во СтГМА, 2005. 575 с.
- Арушанян Э. Б., Ованесов К. Б.* Возрастная зависимость эпифизарных влияний на центральные дофаминергические механизмы у крыс // Ж. высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 1988. Т. 38, № 4. С. 767—768.
- Батурин Д. А., Алимова И. Н., Попович И. Г. и др.* Влияние световой депривации на показатели гомеостаза, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у трансгенных мышей HER-2/neu // Вопр. онкол. 2004. Т. 50, № 3. С. 332—338.
- Бениашвили Д. Ш., Билиашвили В. Г., Менабде М. З. и др.* Модифицирующее влияние режима освещения и электромагнитных полей на развитие опухолей молочной железы, индуцируемых N-нитрозометилмочевинной у самок крыс // Вопр. онкол. 1993. Т. 39, № 1. С. 52—60.
- Бондаренко Л. А.* Некоторые биохимические аспекты функционирования пинеальной железы крысы в онтогенезе // Онтогенез. 1991. Т. 22, № 1. С. 57—62.
- Виноградова И. А.* Влияние светового режима на развитие метаболического синдрома у крыс в процессе старения // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 2. С. 70—75.
- Виноградова И. А., Чернова И. В.* Влияние светового режима на возрастную динамику эстральной функции и уровня пролактина в сыворотке крови у крыс // Успехи геронтол. 2006. Т. 19. С. 60—65.
- Виноградова И. А., Чернова И. В.* Световые режимы и овуляторная функция у крыс в онтогенезе // Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова. 2007. Т. 93, № 1. С. 90—98.
- Виноградова И. А., Букалев А. В., Забежинский М. А. и др.* Влияние светового режима на развитие спонтанных опухолей у самок крыс // Вопр. онкол. 2007. Т. 53, № 5. С. 554—560.
- Виноградова И. А., Букалев А. В., Забежинский М. А. и др.* Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самцов крыс // Вопр. онкол. 2008. Т. 54, № 1. С. 70—77.
- Виноградова И. А., Илюха В. А., Ильина Т. Н. и др.* Влияние мелатонина и эпиталона на антиоксидантную систему крыс зависит от светового режима // Патол. физиол. экспер. тер. 2006. № 3. С. 22—26.

- Гончарова Н. Д., Хавинсон В. Х., Латин Б. А. Пинеальная железа и возрастная патология (механизмы и коррекция). СПб.: Наука, 2007. 168 с.
- Гриневич Ю. А., Лабунец И. Ф. Возрастные особенности функционального состояния вилочковой железы, эпифиза и коры надпочечников у практически здоровых людей // Физиол. журн. 1985. Т. 31, № 3. С. 356—359.
- Губина-Вакулик Г. И., Бондаренко Л. А., Сотник Н. Н. Длительное круглосуточное освещение как фактор ускоренного старения пинеальной железы // Успехи геронтол. 2007. Т. 20, № 1. С. 92—95.
- Жукова О. В. Морфология эпифиза крыс при различных функциональных состояниях (Дипломная работа). Ростовский гос. ун-т, НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова МЗ СССР. 1991. 51 с.
- Жукова О. В., Анисимов В. Н. Влияние световой депривации на канцерогенез, индуцированный N-нитрозометилмочевинной у самок крыс // Вопр. онкол. 1994. Т. 40, № 1—3. С. 71—75.
- Илюха В. А., Виноградова И. А., Федорова А. С., Вельб А. Н. Влияние световых режимов, гормонов эпифиза и возраста на антиоксидантную систему крыс // Мед. акад. ж. 2005. Т. 3. Прилож. 7. С. 18—20.
- Кветной И. М. Райхлин Н. Т., Южаков В. В., Ингель И. Э. Экстрапинеальный мелатонин: место и роль в нейроэндокринной регуляции гомеостаза // Бюл. exper. биол. мед. 1999. Т. 127. С. 364—370.
- Коваленко Р. И. Эпифиз в системе нейроэндокринной регуляции // Основы нейроэндокринологии / Под ред. В. Г. Шаляпиной и П. Д. Шабанова. СПб.: Элби-СПб, 2005. С. 337—365.
- Комаров Ф. И., Рапопорт С. И., Малиновская Н. К., Анисимов В. Н. Мелатонин в норме и патологии. М.: ИД Медпрактика-М. 2004. 308 с.
- Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Бутенко Г. М., Шатило В. Б. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука. 2002. 202 с.
- Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Шатило В. Б. Пинеальная железа: пути коррекции при старении. СПб.: Наука, 2006. 204 с.
- Кураласов А. К. Экспериментальные основы использования искусственного фоторежима для лечения рака молочной железы в условиях Казахстана: Автореферат дис. д-ра мед. наук. М.: ВОНЦ АМН СССР. 1990. 44 с.
- Лазарев Н. И., Ирдь Е. А., Смирнова И. О. Экспериментальные модели эндокринных гинекологических заболеваний. М.: Медицина, 1976. 175 с.
- Миловидова Н. С. Ультраструктурная организация шишковидного тела неполовозрелых и взрослых крыс // Ультраструктурные аспекты морфогенеза и регенерации в норме и патологии. М.: 1976. С. 111—117.
- Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). СПб.: Наука, 1996. 74 с.
- Москалев А. А., Шосталь О. А., Зайнуллин В. Г. Генетические аспекты влияния различных режимов освещения на продолжительность жизни дрозофилы // Успехи геронтол. 2006. Т. 18. С. 55—58.
- Ноздрачев А. Д., Чернышева М. П. Гормональный фактор пространства и времени внутренней среды организма. СПб.: Наука, 2006. 248 с.
- Остроумова М. Н., Дильман В. М. Влияние экстракта эпифиза на порог чувствительности гипоталамуса к ингибирующему эффекту преднизолона // Вопр. онкол. 1972. № 11. С. 53—57.
- Панченко А. В. Канцерогенез толстой кишки в условиях различного режима освещения у крыс // Мед. акад. ж. 2005. Т. 3. Прилож. 7. С. 32—33.
- Пархон К. И. Возрастная биология. Бухарест: Меридианы, 1960. 348 с.
- Петров С. В. Морфофункциональная характеристика шишковидной железы при раке различной локализации. Вопр. онкол. 1984. Т. 30, № 9. С. 29—34.
- Фаттахова Ф. А. Функциональное состояние обызвествленной шишковидной железы у женщин репродуктивного возраста // Казан. мед. журн. 1988. № 4. С. 296.
- Хаецкий И. К. Влияние гипоталамо-гипофизарных нарушений, вызываемых постоянным освещением, на развитие индуцированных опухолей молочных желез у крыс // Вопросы эксп. онкологии. Вып. 1. Киев: Здоров'я. 1965. С. 87—93.

- Хелимский А. М. К вопросу о возрастных изменениях шишковидной железы // Пробл. эндокринологии. 1958. № 2. С. 96—100.
- Хелимский А. М. Эпифиз (Шишковидная железа). М.: Медицина, 1969. 183 с.
- Хмельницкий О. К., Ступина А. С. Функциональная морфология эндокринной системы при атеросклерозе и старении. Л.: Медицина, 1989. 248 с.
- Чернышева М. П. Пространственно-временная структура гормональной системы организма // Основы нейроэндокринологии / Под ред. В. Г. Шаляпиной и П. Д. Шабанова. СПб.: Элби-СПб., 2005. С. 366—402.
- Allen D. J., DiDio L. J. A., Gentry E. R. The aged rat pineal gland as revealed in SEM and TEM // Age. 1982. Vol. 5. P. 119—126.
- Anisimov S. V., Popovic N. Genetic aspects of melatonin biology // Rev. Neurosci. 2004. Vol. 15. P. 209—230.
- Anisimov V. N. The solar clock of aging // Acta Gerontol. 1995. Vol. 45. P. 137—150.
- Anisimov V. N. Light pollution, reproductive function and cancer risk // Neuro Endocrinol. Lett. 2006. Vol. 27, N 1—2. P. 35—52.
- Anisimov V. N., Baturin D. A., Popovich I. G. et al. Effect of exposure to light-at-night on life span and spontaneous carcinogenesis in female CBA mice // Int. J. Cancer. 2004. Vol. 111. P. 475—479.
- Anisimov V. N., Bondarenko L. A., Khavinson V. Kh. The pineal peptides: interaction with indoles and the role in aging and cancer // Neuroendocrinology: New Frontiers / D. Gupta, H. A. Wollmann, M. B. Ranke, eds. London; Tubingen: Brain Research Promotion. 1990. P. 317—325.
- Anisimov V. N., Khavinson V. Kh., Mikhalski A. I., Yashin A. I. Effect of synthetic thymic and pineal peptides on biomarkers of ageing, survival and spontaneous tumour incidence in female CBA mice // Mech. Ageing Dev. 2001. Vol. 122. P. 41—68.
- Anisimov V. N., Khavinson V. Kh., Morozov V. G. Carcinogenesis and aging. IV. Effect of low molecular factors of thymus, pineal gland and anterior hypothalamus on immunity, tumor incidence and life span of C3H/Sn mice // Mech. Ageing Dev. 1982. Vol. 19. C. 245—258.
- Anisimov V. N., Mylnikov S. V., Oparina T. I., Khavinson V. Kh. Effect of melatonin and pineal peptide drug epithalamin on life span and free radical oxidation in *Drosophila melanogaster* // Mech. Ageing Dev. 1997. Vol. 97. P. 81—91.
- Arendt J. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. London: Chapman & Hall. 1995. 331 p.
- Asai M., Yoshinobu Y., Kaneko S. et al. Circadian profile of Per gene mRNA expression in the suprachiasmatic nucleus, paraventricular nucleus, and pineal body of aged rats // J. Neurosci. Res. 2001. Vol. 66. P. 1133—1139.
- Barnes J. W., Tischkau S. A., Barnes J. A. et al. Requirement of mammalian *Timeless* for circadian rhythmicity // Science. 2003. Vol. 302. P. 439—442.
- Bartsch C., Bartsch H. The anti-tumor activity of pineal melatonin and cancer enhancing life styles in industrialized societies // Cancer Causes Control. 2006. Vol. 17. P. 559—571.
- Baturin D. A., Alimova I. N., Anisimov V. N. et al. The effect of light regimen and melatonin on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice is related to a downregulation of HER-2/neu gene expression // Neuroendocrinol Lett. 2001. Vol. 22. P. 439—445.
- Beniashvili D. S., Benjamin S., Baturin D. A., Anisimov V. N. Effect of light/dark regimen on N-nitrosoethylurea-induced transplacental carcinogenesis in rats // Cancer Lett. 2001. Vol. 163. P. 51—57.
- Beniashvili D. Sh., Bilanishvili V. G., Menabde M. Zh., Gupta D., Anisimov V. N. Modifying effect of various light regimens and low-frequency electromagnetic radiation on mammary carcinogenesis induced by N-nitrosomethylurea in female rats // Pathophysiology of Immune-Neuroendocrine Communication Circuit / D. Gupta et al., eds. Heidelberg: Mattes Verlag, 1994. P. 193—213.
- Bencloucif S., Masana M. I., Dubocovich M. L. Responsiveness to melatonin and its receptor expression in the aging circadian clock of mice // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 273. P. R1855—R1860.

- Bentivoglio M., Deng X. H., Nygård M. et al.* The aging suprachiasmatic nucleus and cytokines: functional, molecular, and cellular changes in rodents // *Chronobiol Int.* 2006. Vol. 23. P. 437—449.
- Blask D. E., Dauchy R. T., Sauer L. A. et al.* Growth and fatty acid metabolism of human breast cancer (MCF-7) xenografts in nude rats: impact of constant light-induced nocturnal melatonin suppression // *Breast Cancer Res. Treat.* 2003. Vol. 79. P. 313—320.
- Boya J., Calvo J.* Structure and ultrastructure of the aging rat pineal gland // *J. Pineal Res.* 1984. Vol. 1. P. 83—89.
- Canaple L., Kakizawa T., Laudet V.* The days and nights of cancer cells // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63. P. 7545—7552.
- Chen S. T., Choo K. B., Hou M. F. et al.* Deregulated expression of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers // *Carcinogenesis.* 2005. Vol. 26. P. 1241—1246.
- Chimenti C., Kajstura J., Torella D. et al.* Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure // *Circ Res.* 2003. Vol. 93. P. 604—613.
- Chung F.F., Yao C.C., Wan G.H.* The associations between menstrual function and life style/working conditions among nurses in Taiwan // *J. Occup. Health.* 2005. Vol. 47. P. 149—156.
- Chimino M., Vantini G., Algeri S. et al.* Age-related modification of dopaminergic and beta-adrenergic receptor system: restoration to normal activity by modifying membrane fluidity with S-adenosylmethionine // *Life Sci.* 1984. Vol. 34. P. 2029—2039.
- Claustrat F., Fournier L., Geelen G. et al.* Aging and circadian clock gene expression in peripheral tissues in rats // *Pathol Biol. (Paris).* 2005. Vol. 53. P. 257—260.
- Cos S., Mediavilla D., Martinez-Campa C. et al.* Exposure to light-at-night increases the growth of DMBA-induced mammary adenocarcinomas in rats // *Cancer Lett.* 2006. Vol. 235. P. 266—271.
- Cremer-Bartels G.* The effect of pteridines on multiple forms of hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) in the retina and the pineal gland // *Prog. Brain Res.* 1979. Vol. 52. P. 231—239.
- Davis S., Mirck D. K., Stevens R. G.* Night shift work, light at night, and risk of breast cancer // *J. Natl. Cancer Inst.* 2001. Vol. 93. P. 1557—1562.
- Davis S., Mirck D. K.* Circadian disruption, shift work and the risk of cancer: a summary of the evidence and studies in Seattle // *Cancer Causes Control.* 2006. Vol. 17. P. 539—545.
- Dax E. M., Sugden D.* Age-associated changes in pineal adrenergic receptors and melatonin synthesizing enzymes in the Wistar rat // *Neurochemistry.* 1988. Vol. 50. P. 468—472.
- DeCoursey P. J., Walker J. K., Smith S. A.* A circadian pacemaker in free-living chipmunks: essential for survival? // *J. Comp. Physiol.* 2000. Vol. 186. P. 169—180.
- Deerberg F., Bartsch C., Pohlmeyer G., Bartsch H.* Effect of melatonin and physiological epiphysectomy on the development of spontaneous endometrial carcinoma in BDII/HAN rats // *Cancer Biother Radiopharmacol.* 1997. Vol. 12. P. 420.
- Di Lorenzo L., De Pergola G., Zocchetti C. et al.* Effect of shift work on body mass index: results of a study performed in 319 glucose-tolerant men working in a Southern Italian industry // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2003. Vol. 27. P. 1353—1358.
- Dilman V. M.* Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention Strategy. Chur: Harwood Academic Publ., 1994. 387 p.
- Dilman V. M.* Age-associated elevation of hypothalamic threshold to feedback control and its role in development, aging and disease // *Lancet.* 1971. Vol. 1. P. 1211—1219.
- Dilman V. M., Anisimov V. N.* Hypothalamic mechanisms of ageing and of specific age pathology — I. Sensitivity threshold of hypothalamo-pituitary complex to homeostatic stimuli in the reproductive system // *Exp. Gerontol.* 1979. Vol. 14. P. 161—174.
- Dilman V. M., Anisimov V. N., Ostroumova M. N. et al.* Increase in lifespan of rats following polypeptide pineal extract treatment // *Exp. Pathol.* 1979. Vol. 17, N 9. P. 539—545.
- Djeridane Y., Charbuy H., Touitou Y.* Old rats are more sensitive to photoperiodic changes. A study on pineal melatonin // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 403—408.
- Dubocovich M. L.* Melatonin receptors: Role on sleep and circadian rhythm regulation // *Sleep Med.* 2007. Suppl. 3. P. 34—42.
- Feychting M., Oosterlund B., Ahlbom A.* Reduced cancer incidence among the blind // *Epidemiology.* 1998. Vol. 9. P. 490—494.

- Filipski E., Innominato P. F., Wu M. et al.* Effects of light and food schedules on liver and tumor molecular clocks in mice // *J. Natl. Cancer Inst.* 2005. Vol. 97. P. 507—517.
- Froy O., Chapnik N., Miskin R.* Long-lived  $\alpha$ -MUPA transgenic mice exhibit pronounced circadian rhythms // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. Vol. 291. P. E1017—E1024.
- Fu L., Lee C. C.* The circadian clock: pacemaker and tumour suppressor // *Nature Rev. Cancer.* 2003. Vol. 3. P. 350—361.
- Fu L., Pelicano H., Liu J. et al.* The circadian gene *Period2* plays an important role in tumour suppression and DNA damage response in vivo // *Cell.* 2002. Vol. 111. P. 41—50.
- Galliani I., Frank F., Gobbi P. et al.* Histochemical and ultrastructural study of the human pineal gland in the course of aging // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 1989. Vol. 21. P. 571—578.
- Gauger M. A., Sancar A.* Cryptochrome, circadian cycle, cell cycle checkpoints, and cancer // *Cancer Res.* 2005. Vol. 54. P. 6828—6834.
- Gekakis N., Staknis D., Nguyen H. B. et al.* Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism // *Science.* 1998. Vol. 280. P. 1564—1569.
- Green C. B., Douris N., Kojima S. et al.* Loss of Nocturnin, a circadian deadenylase, confers resistance to hepatic steatosis and diet-induced obesity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 9888—9893.
- Greenberg L. H.* Regulation of brain adrenergic receptors during aging // *Fed. Proc.* 1986. Vol. 45. P. 55—59.
- Greenberg L.H., Weiss B.*  $\beta$ -Adrenergic receptors in aged rat brain. Reduced number and capacity of pineal gland to develop supersensitivity // *Science.* 1978. Vol. 201. P. 61—68.
- Gubin D., Gubin G.* Some general effects of aging upon circadian parameters of cardiovascular variables assessed longitudinally by ambulatory monitoring // *Chronobiol. Internat.* 2001. Vol. 18. P. 1106—1107.
- Gusek W.* Histology of the pineal gland in the elderly human // *Aktuelle Gerontol.* 1983. Vol. 13. P. 111—114.
- Ha M., Park J.* Shift work and metabolic risk factors of cardiovascular disease // *J. Occup. Health.* 2005. Vol. 47. P. 89—95.
- Hahn R. A.* Profound bilateral blindness and the incidence of breast cancer // *Epidemiology.* 1991. Vol. 2. P. 108—210.
- Hamilton T., Sneddon A.* Environmental light and DMBA-induced rat mammary tumours // *Br. J. Surg.* 1968. Vol. 55. P. 71—76.
- Hansen J.* Increased breast cancer risk among women who work predominantly at night. *Ann Epidemiol.* 2001. Vol. 12. P. 74—77.
- Hansen J.* Risk of breast cancer after night- and shift work: current evidence and ongoing studies in Denmark // *Cancer Causes Control.* 2006. Vol. 17. P. 531—537.
- Hasegawa A., Ohtsubo K., Izumiyama N., Shimada H.* Ultrastructural study of the human pineal gland in aged patients including centenarian // *Acta Pathol. Jpn.* 1990. Vol. 40. P. 30—40.
- Hasegawa A., Ohtsubo K., Mori W.* Pineal gland in old age; quantitative and qualitative morphological study of 168 human autopsy cases // *Brain Res.* 1987. Vol. 409. P. 343—349.
- Henden T., Stokkan K. A., Reiter R. J. et al.* The age-associated reduction in pineal  $\beta$ -adrenergic receptor density is prevented by life-long food restriction in rats // *Biol. Signals.* 1992. Vol. 1. P. 34—39.
- Hendrick J. C., Crasson M., Hagelstein M. T. et al.* Urinary excretion of 6-sulphatoxymelatonin in normal subjects: statistical approach to the influence of age and sex // *Ann Endocrinol (Paris).* 2002. Vol. 63. P. 3—7.
- Hoffman A. P., Parsons P.* Selection for increased desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*: additive genetic control and correlated resistance for other stresses // *Genetics.* 1989. Vol. 122. P. 837—845.
- Hoffman A. P., Parsons P.* *Evolutionary Genetics and Environmental Stress.* Oxford: Oxford University Press. 1991. 244 p.
- Hoffman M.A., Swaab D.F.* Living by the clock: The circadian pacemaker in older people // *Ageing Res. Rev.* 2006. Vol. 5. P. 31—51.
- Hofman M. A., Swaab D. F.* Alterations in circadian rhythmicity of the vasopressin-producing neurons of the human suprachiasmatic nucleus (SCN) with aging // *Brain Res.* 1994. Vol. 651. P. 134—142.

- Humbert W., Pevet P. The decrease of pineal melatonin production with age. Causes and consequences // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 43—63.
- Humbert W., Pevet P. Calcium concretions in the pineal gland of aged rats: an ultrastructural and microanalytical study of their biogenesis // *Cell Tissue Res.* 1995. Vol. 279. P. 565—573.
- Humbert W., Pevet P. The pineal gland of the aging rat: calcium localization and variation in the number of pinealocytes // *J. Pineal Res.* 1995a. Vol. 18. P. 32—40.
- Humbert W., Pevet P. Electron probe X-ray microanalysis of the elemental composition of the pineal gland of young adults and aged rats // *J. Pineal Res.* 1996. Vol. 20. P. 39—44.
- Humbert W., Cuisinier F., Vogel J. C., Pevet P. A possible role of collagen fibrils in the process of calcification observed in the capsule of the pineal gland in aging rats // *Cell Tissue Res.* 1997. Vol. 288. P. 435—439.
- Hurd M.W., Ralph M.R. The significance of circadian organization for longevity in the golden hamster // *J. Biol. Rhythms.* 1998. Vol. 13. P. 430—436.
- Iguchi H., Kato K.-I., Ibayashi H. Age-dependent reduction in serum melatonin concentration in healthy human subjects // *J. Clin. Endocr. Metab.* 1982. Vol. 55. P. 27—29.
- Izawa Y. Studies on the pineal body. — I. On the postnatal growth of pineal body of the albino rat with observation on its histology // *J. Comp. Neurol.* 1925. Vol. 39. P. 1—17.
- Jasser S. A., Blask D. E., Brainard G. C. Light during darkness and cancer: relationships in circadian photoreception and tumor biology // *Cancer Causes Control.* 2006. Vol. 17. P. 515—523.
- Jengeleski C. A., Powers R. E., O'Connor D. T., Price D. L. Noradrenergic innervation of human pineal gland: abnormalities in aging and Alzheimer's disease // *Brain Res.* 1989. Vol. 481. P. 378—382.
- Jochle W. Trends in photophysiological concepts // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1964. Vol. 117. P. 88—104.
- Johnson J. E. Fine structural alterations in the aging rat pineal gland. *Exp. Aging Res.* 1980. Vol. 6. P. 189—211.
- King D. P., Zhao Y., Sangoram A. M. et al. Positional cloning of the mouse circadian clock gene // *Cell.* 1997. Vol. 89. P. 641—653.
- Klein D. C., Weller J. L. Indole metabolism in the pineal gland // *Endocr. Res. Commun.* 1981. Vol. 8. P. 253—262.
- Knutsson A. Health disorders of shift workers // *Occupat. Med.* 2003. Vol. 53. P. 103—108.
- Knutsson A., Boggild H. Shiftwork, risk factors and cardiovascular disease: review of disease mechanisms // *Rev. Environ. Health.* 2000. Vol. 15. P. 359—372.
- Kohsaka A., Laposky A. D., Ramsey K. M. et al. High-fat diet disrupts behavioural and molecular circadian rhythms in mice // *Cell Metabol.* 2007. Vol. 6. P. 414—421.
- Kojo K., Pukkala E., Auvinen A. Breast cancer risk among Finnish cabin attendants: a nested case-control study // *Occup. Environ. Med.* 2005. Vol. 62. P. 488—493.
- Kolker D. E., Fukuyama H., Huang D. S. et al. Aging alters circadian and light-induced expression of clock genes in golden hamsters // *J. Biol. Rhythms.* 2003. Vol. 18. P. 159—169.
- Kolker D. E., Vilaterna M. H., Fruechte E. M. et al. Effects of age on circadian rhythms are similar in wild-type and heterozygous *Clock* mutant mice // *Neurobiol. Aging.* 2004. Vol. 25. P. 517—523.
- Kondratov R. V. A role of the circadian system and circadian proteins in aging // *Ageing Res. Rev.* 2007. Vol. 6. P. 12—27.
- Kondratov R. V., Kondratova A. A., Gorbacheva V. Y. et al. Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock // *Genes Dev.* 2006. Vol. 20. P. 1868—1873.
- Korf H. W., Von Gall C., Stehle J. The circadian system and melatonin: lessons from rats and mice // *Chronobiol. Int.* 2003. Vol. 20. P. 697—710.
- Kothari L. Effect of melatonin on the mammary gland morphology, DNA synthesis, hormone profiles and incidence of mammary cancer in rats // D. Gupta, A. Attanasio, R. J. Reiter, eds. *The Pineal Gland and Cancer*. London: Brain Research Promotion, 1988. P. 210—219.
- Kothari L. Influence of chronic melatonin on 9,10-dimethyl-1,2-benzanthrazene-induced mammary tumors in female Holtzman rats exposed to continuous light // *Oncology.* 1987. Vol. 44. P. 64—66.

- Kothari L., Shah P. N., Mhatre M. C.* Effect of continuous light on the incidence of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene induced mammary tumors in female Holtzman rats // *Cancer Lett.* 1982. Vol. 16. P. 313—317.
- Kubo T., Ozasa K., Mikami K. et al.* Prospective study of the risk of prostate cancer among rotating-shift workers: finding from the Japan Collaborative Cohort Study // *Am. J. Epidemiol.* 2006. Vol. 164. P. 549—555.
- Kuchel G. A.* Alterations in target innervation and collateral sprouting in the aging sympathetic nervous system // *Exp. Neurol.* 1993. Vol. 124. P. 381—386.
- Kuchel G. A., Crutcher K. A., Naheed U. et al.* NGF expression in the aged rat pineal gland does not correlate with loss of sympathetic axonal branches and varicosities // *Neurobiol. Aging.* 1999. Vol. 20. P. 685—693.
- Kunieda T., Minamino T., Katsuno T. et al.* Cellular senescence impairs circadian expression of clock genes in vitro and in vivo // *Circulat. Res.* 2006. Vol. 98. P. 532—539.
- Laitinen J. T., Viswabnathan M., Vakkuri O., Saaverda J. M.* Differential regulation of the rat melatonin receptors: selective age-associated decline and lack of melatonin-induced changes // *Endocrinology.* 1992. Vol. 130. P. 2139—2144.
- Lehrer S.* Blindness increases life span of male rats: pineal effect on longevity // *J. Chron. Dis.* 1981. Vol. 34. P. 427—429.
- Lesnikov V. A., Pierpaoli W.* Pineal cross-transplantation (old-to-young and vice versa) as evidence for an endogenous «aging clock» // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 461—473.
- Li J. C., Xu F.* Influences of light-dark shifting on the immune system, tumor growth and life span of rats, mice and fruit flies as well as on the counteraction of melatonin // *Biol. Signals.* 1997. Vol. 6. P. 77—89.
- Lie J.-A. S., Roessink J., Kjaerheim K.* Breast cancer and night work among Norwegian nurses // *Cancer Causes Control.* 2006. Vol. 17. P. 39—44.
- Lin M. C., Kripke D. F., Parry B. L., Berga S. L.* Night light alters menstrual cycles // *Psychiatry Res.* 1990. Vol. 33. P. 135—138.
- MacGibbon M. F., Walls R. S., Everitt A. V.* An age-related decline in melatonin secretion is not altered by food restriction // *J. Gerontol.* 2001. Vol. 56A. P. B21—B26.
- Magri F., Sarra S., Cinchetti W. et al.* Qualitative and quantitative changes of melatonin levels in physiological and pathological aging and in centenarians // *J. Pineal Res.* 2004. Vol. 36. P. 256—261.
- Majeed S. K.* Survey of spontaneous dystrophic mineralization of pineal gland in ageing rats // *Arzneimittel-Forschung.* 1997. Vol. 47. P. 1271—1273.
- Malm O. J., Skaug O. E., Lingjaerde P.* The effect of pinealectomy on bodily growth // *Acta Endocr.* 1959. Vol. 30. P. 22—28.
- Matsuo T., Yamaguchi S., Mitsui S. et al.* Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division in vivo // *Science.* 2003. Vol. 302. P. 255—259.
- Megdal S. P., Kroenke C. H., Laden F. et al.* Night work and breast cancer risk: a systemic review and meta-analysis // *Eur. J. Cancer.* 2005. Vol. 41. P. 2023—2032.
- Miguez J. M., Recio J., Sanchez-Barchelo E., Aldegunde M.* Changes with age in daytime and nighttime content of melatonin, indoleamines, and catecholamines in the pineal gland: a comparative study in rat and Syrian hamster // *J. Pineal Res.* 1998. Vol. 25. P. 106—115.
- Miller B. H., McDearmon E. L., Panda S. et al.* Circadian and CLOCK-controlled regulation of the mouse transcriptome and cell proliferation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 3342—3347.
- Minamino T., Miyauchi H., Yoshida T. et al.* Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction // *Circulation.* 2002. Vol. 105. P. 1541—1544.
- Minamino T., Yoshida T., Tateno K. et al.* Ras induces vascular smooth muscle cell senescence and inflammation in human atherosclerosis // *Circulation.* 2003. Vol. 108. P. 2264—2269.
- Monk T. H.* Shift work // Eds. M. H. Kryger, T. Roth, W. C. Dement. *Principles and Practice of Sleep Medicine.* 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: WB. Saunders Company, 2000. P. 471—476.
- Mormont M. C., Levi F.* Circadian-system alterations during cancer processes: a review // *Int. J. Cancer.* 1997. Vol. 70. P. 241—247.



- Mormont M. C., Waterhouse J., Bleuzen P. et al. Marked 24-h rest/activity rhythms are associated with better quality of life, better response, and longer survival in patients with metastatic colorectal cancer and good performance status // *Clin. Cancer Res.* 2000. Vol. 6. P. 3038—3045.
- Nair N. P. V., Schwartz G., Ng Ying Kin N. M. K. et al. Melatonin and cortisol circadian rhythm in Alzheimer's disease patients and normal elderly subjects // *Biological Clocks. Mechanisms and Applications* / Ed. Y. Touitou. Amsterdam: Elsevier, 1998. P. 357—360.
- Nygaard M., Hill R. H., Wilkstrom M. A., Kristensson K. Age-related changes in electrophysiological properties of the mouse suprachiasmatic nucleus in vitro // *Brain Res. Bull.* 2005. Vol. 15. P. 140—154.
- Okatani Y., Morioka K., Hayashi K. Changes in nocturnal pineal melatonin synthesis during the perimenopausal period: relation to estrogen levels in female rats // *J. Pineal Res.* 1999. Vol. 27. P. 65—72.
- Oxenkrug G. F., Requintina P. J. Clorgyline effect on pineal melatonin biosynthesis in rats with lesioned suprachiasmatic nuclei // *J. Neural Transm. Suppl.* 1998. Vol. 52. P. 329—332.
- Pauley S. M. Lighting for the human circadian clock: recent research indicates that lighting has become a public health issue // *Medical Hypotheses.* 2004. Vol. 63. P. 588—596.
- Perreau V. M., Bondy S. C., Cotman C. W. et al. Melatonin treatment in old mice enables a more youthful response to LPS in the brain // *J. Neuroimmunol.* 2007. Vol. 182. P. 22—31.
- Pierpaoli W., Dall'Ara A., Pedrinis E., Regelson W. The pineal control of aging: the effects of melatonin and pineal grafting on survival of older mice // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991. Vol. 621. P. 291—313.
- Pierpaoli W., Maestroni G. J. M. Melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effect // *Immunol. Lett.* 1987. Vol. 16. P. 355—362.
- Pittendrigh C. S., Daan S. Circadian oscillations in rodents: a systematic increase of their frequency with age // *Science.* 1974. Vol. 186. P. 548—550.
- Pittendrigh C. S., Minis D. H. Circadian systems: longevity as a function of circadian resonance in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1972. Vol. 69. P. 1537—1539.
- Poeggeler B., Reiter R. J., Tan D. X. et al. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis // *J. Pineal Res.* 1993. Vol. 14. P. 151—168.
- Prata Lima M. F., Baracat E. C., Simones M. J. Effects of melatonin on the ovarian response to pinealectomy or continuous light in female rats: similarity with polycystic ovary syndrome // *Brazil J. Med. Biol. Res.* 2004. Vol. 37. P. 987—995.
- Proscenc N., Cervos-Navarro J. Ultrastructural morphology of the aged pineal // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 64—76.
- Pukkala E., Auvinen H., Wahlberg G. Incidence of cancer among Finnish airline cabin attendants, 1967—92 // *Br. Med. J.* 1995. Vol. 311. P. 649—652.
- Pukkala E., Aspholm R., Auvinen A. et al. Incidence of cancer among Nordic airline pilots over five decades: occupational cohort study // *Br. Med. J.* 2002. Vol. 325. P. 567—571.
- Quay R. E. Histological structure and cytology of the pineal organ in birds and mammals // *Progr. Brain Res.* 1965. Vol. 10. P. 49—86.
- Quay W. B., Ma Y. H. Demonstration of gastrointestinal hydroxy-O-methyltransferase // *IRCS Med. Sci.* 1976. Vol. 4. P. 563.
- Rafnsson V., Tulinius H., Jonasson J., Hrafnkelsson J. Risk of breast cancer in female flight attendants: a population-based study (Iceland) // *Cancer Cause Control.* 2001. Vol. 12. P. 95—101.
- Raikhlin N. T., Kvetnoy I. M., Tolkachev V. N. Melatonin may be synthesised in enterochromaffin cells // *Nature.* 1975. Vol. 255. P. 344—345.
- Ralph M. R., Menaker M. A. A mutation of the circadian system in golden hamsters // *Science.* 1988. Vol. 241. P. 1225—1227.
- Ramsey K. M., Bass J. Lean gene and the clock machine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 9553—9554.
- Reddy A. K., Wong G. K. Y., O'Neill J. et al. Circadian clocks: neural and peripheral pacemakers that impact upon the cell division cycle // *Mutat. Res.* 2005. Vol. 574. P. 76—91.
- Reiter R. J. The pineal gland and melatonin in relation to aging: A summary of the theories and of the data // *Exp. Gerontol.* 1995. Vol. 30. P. 199—212.

- Reiter R. J., Richardson B. A., Johnson L. Y. *et al.* Pineal melatonin rhythm: reduction in aging Syrian hamsters // *Science*. 1980. Vol. 210. P. 1372—1373.
- Reiter R. J., Tan D.-X., Kim S. J. *et al.* Augmentation of indices of oxidative damage in life-long melatonin-deficient rats // *Mech. Ageing Dev.* 1999. Vol. 110. P. 157—173.
- Reppert S. M., Weaver D. R. Coordination of circadian timing in mammals // *Nature*. 2002. Vol. 418. P. 935—941.
- Reppert S. M., Perlow M. J., Ungerleider L. G. *et al.* Effects of damage to the suprachiasmatic area of the anterior hypothalamus on the daily melatonin and cortisol rhythms in the rhesus monkey // *J. Neurosci.* 1981. Vol. 1. P. 1414—1425.
- Reynolds P., Cone J., Layefsky M. *et al.* Cancer incidence in California flight attendants (United States) // *Cancer Causes Control*. 2002. Vol. 13. P. 317—324.
- Roozendaal B., van Gool W. A., Swaab D. F. *et al.* Changes in vasopressin cells of the rat suprachiasmatic nucleus with aging // *Brain Res.* 1987. Vol. 409. P. 259—264.
- Ruzsas C., Ghosh M., Rekasi Z., Mess M. Melatonin secretion of the rat pineal gland in response to norepinephrine in different types of the anovulatory syndrome // *Neurobiology*. 1997. Vol. 4. P. 413—421.
- Sack R. L., Lewy A. J., Erb D. L. *et al.* Human melatonin production decreases with age // *J. Pineal Res.* 1986. Vol. 3. P. 379—388.
- Sadki A., Bentivoglio M., Kristensson K., Nygard M. Suppressors, receptors and effects of cytokines on the aging mouse biological clock // *Neurobiol. Aging*. 2006. Vol. 28. P. 296—305.
- Sandyk R. The accelerated aging hypothesis of Parkinson's disease is not supported by the pattern of circadian melatonin secretion // *Int. J. Neurosciences*. 1997. Vol. 90. P. 271—275.
- Satinoff E., Li H., Tcheng T.K. *et al.* Do the suprachiasmatic nuclei oscillate in old rats as they do in young ones? // *Am. J. Physiol.* 1993. Vol. 265. P. R1216—R1222.
- Schernhammer E. S., Hankinson S. E. Urinary melatonin levels and breast cancer risk // *J. Natl. Cancer Inst.* 2005. Vol. 97. P. 1084—1087.
- Schernhammer E. S., Laden F., Speizer F. E. *et al.* Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study // *J. Natl. Cancer Inst.* 2001. Vol. 93. P. 1563—1568.
- Schernhammer E. S., Laden F., Speizer F. E. *et al.* Night-shift work and risk of colorectal cancer in the Nurses' Health Study // *J. Natl. Cancer Inst.* 2003. Vol. 95. P. 825—828.
- Schernhammer E. S., Rosner B., Willett W. C. *et al.* Epidemiology of urinary melatonin in women and its relation to other hormones and night work // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2004. Vol. 13. P. 936—943.
- Schmid H. A., Requintina P. J., Oxenkrug G. F., Sturner W. Calcium, calcification, and melatonin biosynthesis in the human pineal gland: a postmortem study into age-related factors // *J. Pineal Res.* 1994. Vol. 16. P. 178—183.
- Sharman E. H., Bondy S. C., Sharman K. G. *et al.* Effects of melatonin and age on gene expression in mouse CNS using microarray analysis // *Neurochem. Int.* 2007. Vol. 50. P. 336—344.
- Skene D. J., Viven-Roels B., Sparks D. L. *et al.* Daily variation in the concentration of melatonin and 5-methoxytryptophol on the human pineal gland: effect of age and Alzheimer's disease // *Brain Res.* 1990. Vol. 528. P. 170—174.
- Steenland K., Fine L. Shift work, shift change, and risk of death from heart disease at work // *Am. J. Industr. Med.* 1996. Vol. 29. P. 278—281.
- Stevens R. G. Circadian disruption and breast cancer. From melatonin to clock genes // *Epidemiology*. 2005. Vol. 16. P. 254—258.
- Stevens R. G. Artificial lighting in the industrialized world: circadian disruption and breast cancer // *Cancer Causes Control*. 2006. Vol. 17. P. 501—507.
- Stokkan K. A., Reiter R. J., Nonaka K. O. *et al.* Food restriction retards ageing of the pineal gland // *Brain Res.* 1991. Vol. 545. P. 66—72.
- Sutin E. L., Dement W. C., Helelr H. C., Kilduff T. S. Light-induced gene expression in the suprachiasmatic nucleus of young and aging rats // *Neurobiol. Aging*. 1993. Vol. 14. P. 441—446.
- Takumi T., Taguchi K., Miyake S. *et al.* A light-independent oscillatory gene mPer3 in mouse SCN and OVLN // *EMBO J.* 1998. Vol. 17. P. 4753—4759.

- Tan D. X., Chen L. D., Poeggeler B. et al. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger // *Endocrine J.* 1993. Vol. 1. P. 57—60.
- Tang F., Hadjicostantinou M., Pang S. F. Aging and diurnal rhythms of pineal serotonin, 5-hydroxyindolacetic acid, norepinephrine, dopamine and serum melatonin in the male rats // *Neuroendocrinology.* 1985. Vol. 40. P. 160—164.
- Taylor P. J., Pocock S. J. Mortality of shift and day workers 1956—68 // *Brit. J. Industr. Med.* 1972. Vol. 29. P. 201—207.
- Tei H., Okamura H., Shigeyoshi Y. et al. 1997. Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene // *Nature.* 1997. Vol. 389. P. 512—516.
- Tenkane L., Sjoblom T., Kalino T. et al. Shift work, occupation and coronary heart disease over a 6-years of follow up in the Helsinki Heart Study // *Scand. J. Work Environ. Health.* 1997. Vol. 23. P. 257—265.
- Terwel D., Markerink M., Jolles J. Age-related changes in concentrations of vasopressin in the central nervous system and plasma of the male Wistar rat // *Mech. Aging Dev.* 1992. Vol. 65. P. 127—136.
- Thresher R. J., Vitaterna M. H., Miyamoto Y. et al. Role of mouse cryptochrome blue-light photoreceptor in circadian photoreponses // *Science.* 1998. Vol. 282. P. 1490—1494.
- Toh K. L., Jones C. R., He Y. et al. An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome // *Science.* 2001. Vol. 291. P. 1040—1043.
- Touitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 1083—1100.
- Touitou Y., Haus E. Aging of the human endocrine and neuroendocrine time structure // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 378—397.
- Touitou Y., Fevre M., Lagoguey M. et al. Age and mental health related circadian rhythms of plasma melatonin, prolactin, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone // *J. Endocr.* 1981. Vol. 91. P. 467—475.
- Touitou Y., Bogdan A., Haus E., Touitou C. Modifications of circadian and circannual rhythms with age // *Exp. Gerontol.* 1997. Vol. 32. P. 603—614.
- Tsukahara S., Tanaka S., Ishida K. et al. Age-related change and its sex differences in histoarchitecture of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus of F344/N rats // *Exp. Gerontol.* 2005. Vol. 40. P. 147—155.
- Turek F. W., Joshu C., Kohsaka A. et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice // *Science.* 2005. Vol. 308. P. 1043—1045.
- Tynes T., Hannevik M., Andersen A. et al. Incidence of breast cancer in Norwegian female radio and telegraph operators // *Cancer Causes Control.* 1996. Vol. 7. P. 197—204.
- Van den Heiligenberg S., Deprés-Brummer P., Barbason H. et al. The tumor promoting effect of constant light exposure on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats // *Life Sci.* 1999. Vol. 64. P. 2523—2534.
- Van Someren E. J. Circadian and sleep disturbances in the elderly // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 1229—1237.
- Verkasalo P. K., Pukkala E., Stevens R.G. et al. Inverse association between breast cancer incidence and degree of visual impairment in Finland // *Br. J. Cancer.* 1999. Vol. 80. P. 1459—1460.
- Waldhauser F., Wurtman R. J. The secretion and action of melatonin // G. Litwak (ed.). *Biochemical actions of hormones.* N. Y.: Academic Press, 1983. P. 187—225.
- Waldhauser F., Kovacs J., Reiter E. Age-related changes in melatonin levels in humans and its potential consequences for sleep disorders // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 759—772.
- Watanabe A., Shibata S., Watanabe S. Circadian rhythm of spontaneous neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of old hamster in vitro // *Brain Res.* 1995. Vol. 695. P. 237—239.
- Weinert H., Weinert D., Shurov I. et al. Impaired expression of the mPer2 circadian clock gene in the suprachiasmatic nuclei of aging mice // *Chronobiol. Int.* 2001. Vol. 18. P. 559—565.
- Wurtman R. J., Axelrod J., Kelly D. E. *The Pineal.* N. Y. & London: Academic Press. 1968. 364 p.
- Yamasaki S., Straume M., Tei H. et al. Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. P. 10801—10806.

## Глава 9

### ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ

Утром я была я или уже не я?  
Никакой разницы не припомню.  
Но если уж я не я, то кем меня подменили.

*Льюис Керролл. Алиса в Стране чудес*

#### 9.1. ИММУНОСТАРЕНИЕ

Известно, что с возрастом учащаются случаи различных инфекционных заболеваний, аутоиммунных процессов и опухолей. Возможно, это частично обусловлено возрастными дефектами иммунной системы. Связь столь широкого круга зависимых от возраста патологических процессов с дефектами иммунной системы привела к появлению предположения, что старение иммунной системы может ограничивать продолжительность жизни (Walford, 1969). Однако, несмотря на то что выполнено множество экспериментальных и клинических исследований, свидетельствующих о возрастном истощении иммунной системы, имеющихся данных все же недостаточно для объяснения всех проявлений старения (Lipschitz, 1987; Miller, 1999; Полякова и др., 2001; Романюха, Яшин, 2001; Uemura et al., 2002; Санникова и др., 2003; Полякова, Кветной, 2004; Gupta et al., 2004; Krabbe et al., 2004; Семенов и др., 2005; DelaRosa et al., 2006; Dejaco et al., 2006). Множество клеточных и гуморальных компонентов, вовлекаемых в иммунные реакции (табл. 9.1), и большое число модулирующих неиммунных факторов, которые также могут изменяться в старости (Фрейдлин, 1998; Hadden, 1998; Fulop et al., 2006), не позволяют и сегодня нарисовать исчерпывающую картину иммуностарения.

Иммунная и гемопозитическая система тесно связаны, поскольку имеют единое происхождение от общих поливалентных стволовых клеток. Обе играют ключевую роль в защите организма, предупреждении развития опухолей и возникновении ответа на инфекционные агенты (Lipschitz, 1987). Однако оказалось, что с возрастом основной гемопоз у животных и у человека не изменяется или изменяется минимально (Lipschitz, 1987). Резервные возможности могут сужаться, что приводит к снижению способности реагировать на стрессорное воздействие. Периферические лимфоидные органы, такие как селезенка и лимфоузлы, с возрастом не претерпевают закономерных изменений в размерах. С возрастом не связывают каких-либо поражений костного мозга. Продукция стволовых клеток, как правило, хорошо сохранена у пожилых, хотя и имеются данные о небольших изменениях скорости их репликации (Harrison et al., 1978).

Таблица 9.1

**Цитокины и проявления их активности в тимусе  
(Фрейдлин, 1998; Ярилин, 1999, с дополнениями)**

Цитокины	Клетки-продуценты	Эффекты
IL-1	Эпителиальные клетки, макрофаги	Костимуляция пролиферации ПТЛ и CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup>
IL-2	ПТЛ, CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup>	Пролиферация CD4 <sup>+</sup> и CD8 <sup>+</sup>
IL-3	CD4 <sup>+</sup>	Костимуляция ПТЛ
IL-4	ПТЛ, CD4 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup>	Пролиферация CD4 <sup>+</sup> и CD8 <sup>+</sup>
IL-5	CD4 <sup>+</sup>	Костимуляция CD4 <sup>+</sup> и CD8 <sup>+</sup>
IL-6	Фибробласты, эпителиальные клетки, макрофаги	Костимуляция ПТЛ, CD4 <sup>+</sup> и CD8 <sup>+</sup>
IL-7	Эпителиальные клетки, фибробласты	Пролиферация ПТЛ, CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> и CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup>
IL-8	ПТЛ, CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup> , НК	Индукция хемотаксиса, костимуляция CD4 <sup>+</sup> и CD8 <sup>+</sup>
IL-9	CD4 <sup>+</sup>	Костимуляция ПТЛ
IL-10	CD4 <sup>+</sup>	Подавление пролиферации
IL-11	Фибробласты	Развитие миелоидных элементов
IL-12	Макрофаги	Костимуляция ПТЛ и CD8 <sup>+</sup>
ФНО-α	ПТЛ, макрофаги, эпителиальные клетки	Костимуляция ПТЛ, CD4 <sup>+</sup> и CD8 <sup>+</sup>
Фактор стволовых клеток	Фибробласты	Пролиферация ПТЛ и эпителиальных клеток
Интерферон-α	ПТЛ, CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup>	Активация макрофагов, эпителиальных клеток и дендритных клеток
Интерферон-α	Фибробласты	Активация макрофагов
ГМ-КСФ	ПТЛ, фибробласты, макрофаги, эпителиальные клетки	Костимуляция CD3 <sup>+</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup> , развитие макрофагов и дендритных клеток
М-КСФ	Фибробласты, макрофаги, эпителиальные клетки	Развитие миелоидных клеток
ТФР	Фибробласты	Подавление пролиферации

Примечание. КСФ — колониестимулирующие факторы (Г-КСФ — колониестимулирующий фактор гранулоцитов, М-КСФ — колониестимулирующий фактор макрофагов, ГМ-КСФ — гранулоцитарный и моноцитарный колониестимулирующий фактор); ПТЛ — предшественники Т-лимфоцитов; ФНО — фактор некроза опухолей; IL — интерлейкины.

Считается, что инволюция тимуса, начинающаяся при половом созревании, является главным возрастным изменением иммунной системы. Такая инволюция состоит в прогрессивной потере клеточности с истощением лимфоидного пула клеток в зонах коры и кистозными изменениями эпителиальных клеток. Они являются источником различных пептидов, вовлекаемых в дифференцирующиеся лимфоидные клетки (Т-клетки) из более молодых лимфоидных клеток. Выход дифференцированных Т-клеток снижа-

ется с увеличением возраста (Globerson et al., 1990). Прогрессивно снижаются синтез и секреция полипептидных гормонов тимуса, таких как тимозин, тимопоэтин и тимулин. Считается установленным, что снижение эндокринной активности тимуса играет ключевую роль в возрастных дисфункциях иммунной системы, поскольку заместительная терапия введением гормонов способна восстановить различные иммунные функции в старости (Zatz, Goldstein, 1985). Обмен цинка, который играет существенную роль в иммунокомпетенции, в старости снижается, тогда как добавки цинка могут восстановить иммунные функции (Fabris et al., 1990).

В последние годы получены новые данные, свидетельствующие о том, что возрастное увеличение содержания в мембране Т-клеток холестерина приводит к нарушению их функции и ответа на регулирующие сигналы (Larbi et al., 2004; Nguyen et al., 2004). Этот феномен, впервые охарактеризованный В. М. Дильманом и названный им «метаболическая иммунодепрессия» (Dilman, 1978), получил дальнейшее развитие в работах Т. Fulop и соавт. (2004), показавших, что иммунные клетки лиц старше 65 лет содержат по крайней мере в 2 раза больше холестерина, чем у молодых людей в возрасте от 19 до 25 лет. Авторы предположили, что избыток холестерина в старых иммунных клетках непосредственно определяет снижение их функции путем образования так называемых липидных плотов (lipid-raft mechanism) (Fulop et al., 2001, 2006; Larbi et al., 2004). Снижение ответа Т-клеток, обусловленное избыточным уровнем холестерина в их мембране, может частично объяснять снижение эффективности вакцинации у пожилых, а также снижение ответа на бактериальную и вирусную инфекции (Globerson, Effros, 2000).

Зрелые Т-клетки, лимфоциты костного мозга (В-клетки) и естественные клетки-киллеры (NK-клетки) могут быть определены в крови и лимфоидных органах с помощью специфических моноклональных антител. У человека с помощью этого метода не выявлено значительных изменений соотношения различных субпопуляций лимфоцитов. Однако обнаружены серьезные изменения функционирования Т-лимфоцитов (Thompson et al., 1987). В то время как общее количество Т-клеток в периферической крови в старости заметно не изменяется, наблюдаются четкие различия в относительном количестве подтипов Т-клеток (Thompson et al., 1987; Lipschitz, 1987; Uemura et al., 2002). Количество незрелых лимфоцитов Т-предшественников увеличивается с возрастом, так же как и процент частично активированных Т-лимфоцитов, несущих маркеры незрелого фенотипа тимуса. Наблюдается относительное увеличение цитотоксических супрессорных Т-клеток и уменьшение количества хелперов/индукторов Т-клеток. Функциональные дефекты клеточно-опосредованного иммунитета коррелируют с уменьшением популяции хелперов/индукторов (Lipschitz, 1987; Thompson et al., 1987; Uemura et al., 2002). Клетки, полученные от старых людей или лабораторных животных, менее способны к ответу на аллогенные лимфоциты, фитогемагглютинин, конканавалин А и растворимый антиген. Лимфоциты более старых мышей обладают меньшей способностью вызывать реакции оттор-

жения, чем те, которые получены от более молодых особей тех же инбредных линий (Thompson et al., 1987).

Половина здоровых людей в возрасте старше 50 лет страдает кожной гиперчувствительностью (Lipschitz, 1987; Дильман, 1987). Уменьшение количества хелперов/индукторов Т-клеток и функций клеточно-опосредованного иммунитета сопровождается ростом количества антител и аутоиммунных реакций (Thompson et al., 1987).

Труднее выявить возрастные изменения гуморального иммунитета (функция В-клеток). Исследования влияния возраста на продукцию антител дают противоречивые результаты, возможно, из-за широкой вариабельности этих показателей, характерной для стареющих индивидуумов. Однако твердо установлено, что старение значимо ассоциируется с присутствием различных антител, особенно антител против ядерных антигенов. Получены также доказательства, что старение влияет на скорость продукции антител активированными В-клетками (Lipschitz, 1987; Uemura et al., 2002).

Что касается функциональных изменений, то их нарушения отмечены на различных уровнях. Во-первых, способность к пролиферации Т-клеток старых индивидуумов, как правило, снижена вне зависимости от стимуляции (антигенами, митогенами), и дефект касается как снижения числа клеток, отвечающих на стимуляцию, так и преждевременного истощения мощности клона отвечающих клеток.

Во-вторых, подавляется ответ на многие интерлейкины, которые физиологически опосредуют модуляцию пролиферативной реакции. Этот феномен был зарегистрирован не только в отношении Т-клеток, но также и для НК-клеток, которые менее чувствительны в старом возрасте к действию интерлейкина-2 или интерферона (Provinciali, Fabris, 1990). В отношении вспомогательных клеток (фагоцитов, макрофагов) известно, что их количество и функция не изменяются с возрастом, а при определенных обстоятельствах оказывается, что их активность усиливается.

Показано, что функции тимуса с возрастом снижаются или утрачиваются в такой последовательности (Полякова и др., 2001):

- влияние на репопуляцию Т-зависимых участков лимфоузлов;
- влияние на выработку реагирующих на ФГА и конканавалин А Т-клеток селезенки;
- влияние на хелперную активность Т-клеток селезенки;
- влияние на реактивность клеток селезенки к аллогенным лимфоцитам.

Установлено, что развивающееся по мере увеличения возраста истощение иммунной системы, проявляющееся прежде всего уменьшением числа Т-лимфоцитов и нарушением дифференцировки В-лимфоцитов в продуцирующие антитела плазматические клетки, способствует развитию аутоиммунных заболеваний и злокачественных новообразований (Miller, 1999; Полякова и др., 2001; Романюха, Яшин, 2001). Снижению иммунной функции Т-клеток способствуют такие факторы, как дефекты стволовых клеток, инволюция тимуса, дефекты в вырабатывающих антигены клетках, старение покоящихся иммунных клеток, репликативное истощение клонально раз-

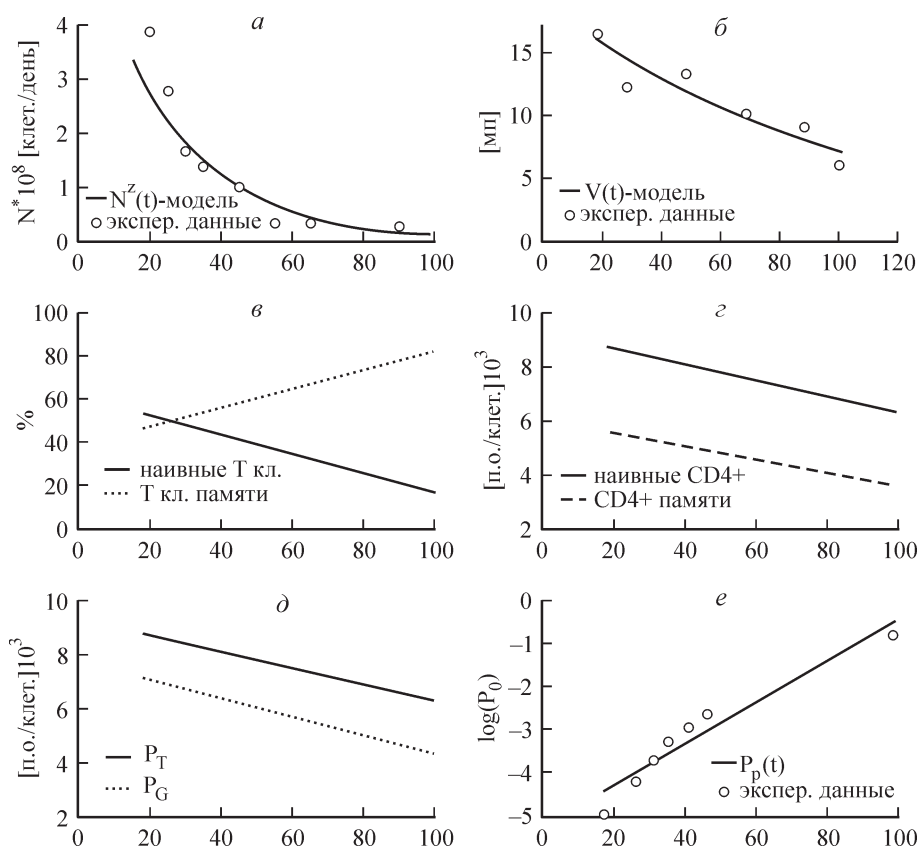


Рис. 9.1. Процесс старения Т-системы иммунитета при замедленной инволюции тимуса (Романюха, Яшин, 2001).

*a* — скорость образования наивных Т-клеток; *b* — динамика лимфатической ткани селезенки; *c* — изменение доли наивных Т-клеток и Т-клеток памяти в периферической крови; *d* — возрастная динамика длины теломер в  $CD4^+$  клетках; *e* — длина теломер в  $CD4^+$  клетках (наивных) клетках ( $P_T$ ) и в гранулоцитах ( $P_G$ ); *e* — вероятность смерти ( $P_0$ ) от пневмонии.

множающихся клеток (Pawelec et al., 1999; Полякова и др., 2001). Подчеркивается, что одним из наиболее значимых возрастных нарушений в популяции Т-клеток является изменение соотношения долей естественных Т-клеток, которое уменьшается, и долей обладающих иммунной памятью сопутствующих Т-клеток, которое увеличивается. Возрастная инволюция тимуса сопровождается снижением секреции гормонов тимуса и продукции множества медиаторов иммунного ответа, таких как тимопоэтины, тимозин  $\alpha$ -1, тимулин, тимический гуморальный фактор и др. (Полякова и др., 2001) (рис. 9.1). Следует отметить, что у лиц, проживших более 100 лет и сохранивших относительное здоровье, уровень ряда иммунологических показателей соответствует показателям 50—60-летних (Franceschi et al., 1995).



Результаты математического моделирования возрастной динамики иммунологического старения показали, что среднее время жизни Т-клеток памяти с возрастом увеличивается, а их способность реагировать на антигены снижается (Романюха, Яшин, 2001). Уменьшение антигенной нагрузки организма повышает его резистентность в среднем возрасте. Замедление инволюции тимуса, с одной стороны, обеспечивает резистентность к новым инфекциям в пожилом возрасте, но, с другой — приводит к значительному уменьшению силы и продолжительности иммунной памяти. Снижение репликативного потенциала клеток-предшественников Т-лимфоцитов рассматривается как фактор, обуславливающий снижение эффективности методов иммунокоррекции в старших возрастах (Романюха, Яшин, 2001).

Важным достижением в изучении механизмов иммуностарения стало установление роли в его развитии возрастных изменений в нервной и эндокринной системах. Связь между нервной и иммунной системами опосредуется гормонами и нейромедиаторами, которые достигают лимфоидных органов и клеток через кровь или прямые связи с вегетативной нервной системой (Hadden, 1998). Нейроэндокринно-иммунные взаимодействия осуществляются циркуляцией гуморальных факторов эпифизарно-гипоталамо-гипофизарной системы, непосредственно нейропептидами и гормонами, либо опосредованно через действие компонентов этой системы на секрецию гормонов периферических эндокринных желез, которые также обладают иммуномодулирующей активностью (Hadden, 1998). В экспериментах было продемонстрировано, что воздействие на старых животных гормонами щитовидной железы, гормоном роста и аналогами гормона, высвобождающего ЛГ, способно индуцировать реактивацию эндокринной функции тимуса, восстанавливать различные связанные с возрастом периферические иммунодефициты, такие как функциональная полноценность Т-клеток, цитотоксичность НК-клеток (Fabris, 1991). С другой стороны, возрастные нарушения такой функции мозга, как сон, сопровождается серьезными изменениями в регуляции метаболических процессов в организме, в частности снижением толерантности к углеводам и чувствительности к инсулину, и расстройствами в деятельности иммунной системы (Prinz, 2004). В основе этих процессов могут лежать возрастное снижение продукции мелатонина (Комаров и др., 2004; Karasek, 2004).

По-видимому, нейроэндокринная система действует не только как модулятор иммунной системы, но так же, как мишень для сигналов, генерируемых в иммунной системе. Примерами подобных взаимодействий являются изменения нейроэндокринного баланса, которые могут быть индуцированы удалением соответствующих лимфоидных органов (например, тимуса) или нарушением функции иммунной системы в результате реагирования на иммуногенные или толерогенные дозы антигена. Кроме того, зрелые лимфоидные клетки, стимулируемые антигеном, продуцируют гуморальные факторы, сходные (если не идентичные) с классическими гормонами и нейромедиаторами (такими как АКТГ, ТТГ, гормон роста, пролактин, гамма-адреналины). Эти реципрокные связи между нейроэндокринной и им-

мунной системами имеют место в течение всей жизни, но приобретают особое значение в период старения (Fabris, 1991).

Было установлено, что некоторые иммуномодуляторы, в частности витамин Е, калорийно ограниченная диета и физические упражнения, вакцины, пептидные препараты тимуса могут восстанавливать компетентность иммунных клеток в старом организме и увеличивать продолжительность жизни животных (Morozov, Khavinson, 1997; Anisimov et al., 2000, 2001a; Коркушко и др., 2002; Hirokawa, Utsuyama, 2002) (см. гл. 15).

## 9.2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОСПАЛЕНИЯ И СТАРЕНИЯ

В последние годы значительную часть старческого фенотипа, включая иммуностарение, объясняют нарушением баланса между системами, обеспечивающими процесс воспаления и системами, препятствующими воспалительным реакциям в организме, которое в конечном счете приводит к развитию вялого хронического провоспалительного состояния, называемого по-английски *inflammaging* (Franceschi et al., 2000, 2007), что можно перевести, наверное, как «воспалительное старение». В соответствии с этой концепцией благополучное старение и долголетие определяются не только невысокой предрасположенностью к воспалительным реакциям, но и эффективностью противовоспалительной системы, которая при нормальном старении не способна нейтрализовать последствия воспалительного процесса, следующего за длительным воздействием антигенов и повреждающих агентов. Полагают, что такое «глобальное» нарушение может быть движущей силой для развития состояния «хилости» (*frailty*) и возникновения основных ассоциированных со старением заболеваний (Franceschi et al., 2007).

Повреждающие агенты могут продуцироваться организмом вследствие нормальных метаболических процессов (например, образование АФК), либо за счет воздействия неустрашимых экзогенных физических (например, ультрафиолетовые лучи при экспозиции к солнечному свету), химических (ксенобиотики, мутагены, канцерогены) или биологических (вирусы, бактерии, паразиты) агентов. В совокупности они представляют внешнюю среду, хотя отчетливую границу между внешней и внутренней средой провести довольно трудно, если вообще возможно. В организме существуют различные механизмы, взаимодействующие с такими агентами и нейтрализующие негативные последствия их воздействия на организм. С. Franceschi и соавт. (2007) приводят перечень таких механизмов:

1) *на молекулярном уровне*: механизмы репарации ДНК, продукция белков теплового шока и других шаперонов; обновление белков и органелл, антиокислительные и детоксицирующие системы;

2) *на клеточном уровне*: апоптоз и аутофагия клеток, фагоцитоз и уничтожение поврежденных клеток, клеточное старение, замещение погибших

клеток прогениторными клетками, происходящими из стволовых клеток (клеточное и тканевое обновление);

3) *на системном уровне*: иммунные и воспалительные реакции, стрессовые реакции, нейроэндокринные реакции;

4) *на уровне организма*: поведенческие/избегательные реакции, имеющие целью минимизировать опасность и повреждение.

Подчеркивается, что все эти типы реакции на повреждающий агент вносят свой вклад в выживаемость и можно полагать, что в целом скорость старения и долголетие, достигаемое видом, является суммой всех этих механизмов (способностью к адаптации или ремоделированию). В эволюции происходил процесс положительного отбора с целью максимизировать эффективность этих защитных механизмов как целого, поскольку они являлись критическими для поддержания состояния здоровья и обеспечения максимальной репродуктивной способности. Основное предположение, которое следует из этой концепции, состоит в том, что различная продолжительность жизни индивидуумов одного вида может быть объяснена различиями в способности к индивидуальной адаптации и ремоделированию, основанными на тонких различиях между индивидуумами в отношении эффективности набора вышеупомянутых защитных механизмов, эволюционно отобранных по некоторому определенному для каждого вида уровню эффективности. Таким образом, варианты, которые играют роль в долголетии человека на индивидуальном уровне, принадлежат к репертуару различий, возникших в результате эволюционного отбора на популяционном уровне.

Наряду с различиями в геноме, значительное различие между человеком и животными, используемыми в лабораторных экспериментах для изучения старения и долголетия, заключается в количестве и качестве антигенной нагрузки. Обычно лабораторных животных содержат в искусственно «чистом» помещении, иногда полностью защищенном от контакта с патогенными бактериями (SPF — specific pathogenic free, «барьерный» виварий). Эти животные существенно отличаются от живущих в дикой природе, где они подвергаются воздействию огромного числа различных микроорганизмов (бактерий, вирусов и паразитов). Человек находится в особой ситуации: с одной стороны, он не живет в «дикой природе», а с другой — наша среда обитания, хотя и частично контролируется, но все же полна микроорганизмов.

На основании данных сравнительного и филогенетического изучения особенностей иммунной системы у различных организмов, от беспозвоночных до рыб, рептилий, птиц и человека, С. Franceschi выдвинул унифицированную гипотезу, согласно которой иммунный ответ, воспалительная реакция и стрессорный ответ являются частью интегральной и эволюционно высоко консервативной реакции, критической для выживания, предназначенной для взаимодействия с любым типом стрессоров, воздействующих на организм и потенциально представляющих угрозу жизни (Ottaviani, Franceschi, 1997, 1998). Такой эволюционный подход позднее был развит в направлении исследования роли антигенной нагрузки в течение всей жизни в старении и долголетия.

Одной из первых неожиданных находок, сыгравших ключевую роль в развитии концепции «воспалительного старения», явилось наблюдение увеличенной продукции провоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками периферической крови старых людей по сравнению с клетками лиц молодого возраста (Fagiolo et al., 1993). В тот период времени доминировали представления о том, что в старческом возрасте имеет место генерализованная иммунодепрессия. Дальнейшие исследования позволили установить, что при старении имеет место активация как врожденной, так и приобретенной ветвей иммунной системы. Другими словами, если первая поддерживает хронический в небольшой степени выраженный воспалительный статус, другая ветвь характеризуется истощением эволюционно более молодой ветви иммунной системы (адаптивно/клональнотипический иммунитет) (Franceschi et al., 2007). Это истощение обусловлено накоплением мегаклонов клеток памяти, которые заселяют все иммунологическое пространство и продуцируют ограниченный репертуар Т-лимфоцитов (Franceschi et al., 2001, 2007).

Основные характеристики «воспалительного старения» могут быть суммированы следующим образом (Franceschi et al., 2007):

- увеличение в сыворотке крови различных провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-15) и других маркеров воспаления, таких как факторы коагуляции;
- большая роль широко распространенных вирусов, таких как цитомегаловирус (CMV) и вирус Эпштейн—Барра (EBV), которые в большинстве случаев вызывают субклиническое инфицирование, весьма частое у пожилых. У них выявляются мегаклоны клеток памяти, направленных против эпитопов CMV и EBV, и высокий процент CD8<sup>+</sup> Т-клеток, специфичных к немногим эпитопам этих вирусов. В лонгитудинальных исследованиях показано, что носительство цитомегаловируса (CMV<sup>+</sup>) и других маркеров иммуностарения, описываемое как «фенотип иммунного риска» (Immune Risk Phenotype, IRP) (Wikby et al., 2006), является мощным предиктором заболеваемости и смертности у пожилых;
- имеет место генетический компонент «воспалительного старения», о чем свидетельствуют исследования полиморфизма и генотипирования генов, кодирующих воспалительные молекулы, так же, как и цитокины и факторы коагуляции.

С. Franceschi и соавт. (2007) подчеркивают, что эти результаты и создание концепции «воспалительного старения» были бы невозможны, если бы исследования по иммуностарению выполнялись только на лабораторных животных. Эти животные на протяжении жизни подвергаются воздействию ограниченного спектра микробных антигенов и не могут отражать ситуацию у человека, на которого на протяжении жизни, и особенно ее последних десятилетий, воздействует огромное количество разнообразных антигенных стимулов.

Имеются указания, что при старении имеет место 2—4-кратное увеличение уровня в сыворотке крови воспалительных медиаторов, таких как цито-

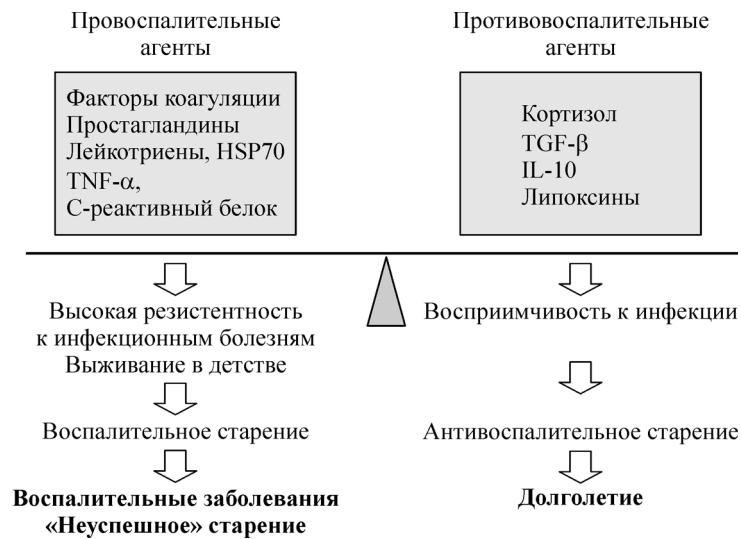


Рис. 9.2. Взаимосвязь воспалительного и антивоспалительного старения.

кины и белки острой фазы (Krabbe et al., 2004). Различные эндогенные и экзогенные факторы могут способствовать провоспалительному статусу: избыток жира, уменьшение продукции половых гормонов, курение, субклинические инфекции (например, бессимптомная бактериурия), сердечно-сосудистые заболевания, болезнь Альцгеймера.

На рис. 9.2 представлена схема баланса между процессами, возникающими при воздействии на организм провоспалительных и противовоспалительных агентов, следствием которых может быть либо «воспалительное старение» (как вариант «неуспешного» старения), либо «антивоспалительное старение», как фактор долголетия. Эффективная воспалительная реакция может обеспечивать высокую резистентность к инфекционным заболеваниям, но в то же время увеличивать вероятность развития в пожилом возрасте связанных с воспалением заболеваний. С другой стороны, слабая воспалительная реакция, хотя и может повышать восприимчивость к инфекциям, может давать определенные преимущества и увеличивать выживаемость (Franceschi et al., 2007).

В условиях воздействия на организм разнообразных повреждающих факторов морфологические и физиологические изменения, развивающиеся в организме при старении, возникают как следствие ремоделирования органов и тканей при замещении поврежденных клеток. В этом адаптационном процессе стволовые клетки и их взаимодействие с клеточным микроокружением играют основную роль (Franceschi et al., 2007). При исследованиях на гетерохронных мышах-парабионтах наблюдали омолаживающее действие старых прогениторных клеток воздействием молодого системного окружения (Conboy et al., 2005), что позволило предположить, что стволовые клетки, полученные от старых животных, способны поддерживать и восста-

навливать старые ткани, если создать им оптимальное микроокружение. Напротив, стволовые клетки от молодых животных угнетаются микроокружением старого организма. Этим данным соответствуют результаты, полученные в исследованиях на людях. Оказалось, что экспрессирующие CD34<sup>+</sup> кроветворные прогениторные клетки, присутствующие в сниженном числе в периферической крови девяносто- и столетних людей, способны формировать эритроидные, гранулоцитарно-макрофагальные и смешанные колонии, неотличимые от таковых у молодых людей по таким параметрам, как количество, размеры и морфология, когда их экспонировали *in vitro* к оптимальным концентрациям цитокинов (Moresi et al., 2005).

Следует отметить, что возрастные и обусловленные воспалением изменения в микроокружении могут вызывать изменения в экспрессии генов и профиле протеосома при старении, что может объяснить неожиданные и кажущиеся парадоксальными результаты, полученные в исследованиях на столетних (De Benedictis, Francesci, 2006; Olivieri et al, 2006).

### **9.3. ИНФЕКЦИЯ, ВОСПАЛЕНИЕ И ДОЛГОЛЕТИЕ: БИОДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

На протяжении последних 250 лет ожидаемая продолжительность человека увеличилась в два раза. При этом наиболее быстрыми темпами уменьшалась смертность в молодом возрасте. На основании этих данных С. F. Finch и Е. М. Crimmins (2004) предположили, что историческое увеличение ожидаемой продолжительности жизни в пожилом возрасте было обусловлено уменьшением воздействия инфекционных заболеваний и других факторов хронического воспаления. Хорошо известно, что в когортах с низкой ранней смертностью, связанной с инфекционными болезнями, снижение смертности наблюдается в течение всей взрослой жизни. Были высказаны также предположения, что снижение смертности в молодом и старческом возрасте связано с улучшением в характере питания и уменьшением повреждения внутренних органов, вызываемых инфекцией (Barker, 2004).

Полагают, что демографическая и экономическая революции, начавшиеся более 200 лет во второй половине XIX века, также сопровождалась физиологической революцией, которая наблюдалась задолго до того, как современная медицина достигла высокого уровня и проявилась также увеличением роста людей (Crimmins, Finch, 2006). Дискуссии о причинах исторического уменьшения смертности не сняли вопросов об относительной роли улучшения общественного здравоохранения, вакцин, доходов и питания (Riley, 2001). Однако очевидно, что все эти факторы могли способствовать снижению инфекционной заболеваемости и повышать резистентность к инфекциям. Е. М. Crimmins и С. Е. Finch (2006) предложили модель, согласно которой снижение уровня инфицирования и воспаления в течение жизни снижает и замедляет атеросклеротический процесс и уменьшает

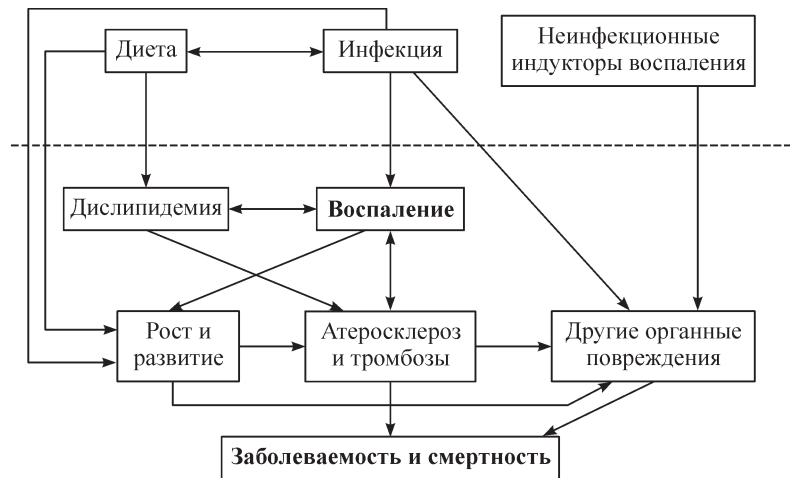


Рис. 9.3. Схема, связывающая действие инфекции в раннем возрасте и внешней среды с воспалением, ростом, повреждением органов, заболеваемостью и смертностью в старческом возрасте (Crimmins, Finch, 2006).

смертность, вызванную заболеваниями сердца, а также приводит к увеличению роста тела (рис. 9.3).

Эта модель подчеркивает связь между уменьшением инфекции через редукцию воспаления и уменьшением риска атеросклероза, но показывает также, что существуют другие потенциальные связи, например путем улучшения питания и уменьшения прямого повреждения органов. В высокоинфицированной среде у детей наблюдается высокий уровень воспалительных реакций, который промотирует процесс атерогенеза даже без способствующей атеросклерозу высокожировой диеты. Инфекции и воспалительные реакции рассматриваются авторами модели как факторы риска в развитии атеросклероза, длящегося практически всю жизнь и начинающегося *in utero*. Например, в Норвегии высокая детская смертность, тесно связанная с экспозицией к инфекции выживших, в высокой степени коррелирует со смертью от атеросклероза через 40—60 лет для когорт, рожденных в 1896—1925 гг. (Forsdahl, 1977). В современных популяциях с высокой смертностью от инфекций наблюдается высокий уровень в крови воспалительных белков «острой фазы», например С-реактивного белка, IL-6 и фибриногена. Подъем их даже до среднего уровня является фактором риска для коронарной болезни сердца и инсульта (Danesh et al., 2004). Имеются данные о том, что в семьях лиц, умерших от инфекционных заболеваний, уровень в сыворотке крови провоспалительных цитокинов (TNF) был выше, а противовоспалительного цитокина IL-10 — ниже, чем в обычной популяции (Westerndorp, 2004).

Для проверки своей гипотезы когортной заболеваемости Е. М. Crimmins и С. Е. Finch (2006) изучили ассоциацию между ранней и поздней смертностью для когорт, родившихся к 1900 году в Швеции, Англии, Франции и

Швейцарии. При этом предполагалось, что исторический тренд в смертности в молодом и старческом возрасте будет одинаков во всех когортах. Сравнивались также тренды смертности в детском и среднем возрасте в когортах. Ожидалось, что тренды будут менее одинаковыми для детской смертности, поскольку люди среднего возраста не умирают от хронических заболеваний, развивающихся при воспалительных реакциях. Исследование было ограничено когортами, родившимися до начала XX века, когда уровень инфекционных заболеваний был высок, но не было еще столько курящих, поскольку курение является одним из основных стимуляторов воспаления. Более важным было то обстоятельство, что эти когорты становились взрослыми до всеобщей иммунизации детей и до эры антибиотиков. Провоспалительный механизм, по мнению авторов, мог бы действовать только в случае высокой детской смертности от инфекций, поскольку в случае низкой частоты инфекций нельзя было бы объяснить тренды в пожилом возрасте. Кроме того, авторы работы ограничили свой анализ периодом до 1973 года, поскольку драматические изменения в уровне смертности в пожилых возрастах, наблюдающиеся во многих странах после 1970 года, могут быть лучше объяснены успехами медицины и факторами стиля жизни. Результаты анализа показали, что в четырех странах Европы в различные периоды времени начиная с 1751 по 1899 год смертность среди пожилых уменьшалась в тех же когортах, в которых наблюдалось ее уменьшение в детском возрасте. Высокая детская смертность была интерпретирована как прямой показатель высокой частоты инфицированности и воспаления среди выживших в когортах людей. Аналогичные наблюдения имеются в литературе. В ряде сельских церковных приходов Швеции в XVII веке высокой ранней смертности соответствовала высокая смертность выживших пожилых. Имеются данные о том, что выжившие после перенесенных детских заболеваний имеют худшее здоровье в зрелом возрасте (Blackwell et al., 2001). Е. М. Crimmins и С. Е. Finch (2006) полагают, что единый механизм, связывающий детские инфекции со смертностью в пожилом возрасте, состоит в более высоком уровне и длительности воспалительной реакции.

Инфекции могли прямо поражать некоторые органы. Классическим примером может быть повреждение сердечных клапанов при стрептококковой инфекции. До изобретения антибиотиков у лиц, переживших ревматическую лихорадку, часто развивались эндокардиты с повреждением сердечных клапанов, что приводило к высокой смертности. Таким образом, историческое снижение экспозиции к инфекциям, прямо уменьшая органные повреждения, должно также впоследствии уменьшать смертность в старших возрастах (Crimmins, Finch, 2006). Авторы полагают, что их модель также объясняет замедление развития атеросклероза и тромбоэмболических состояний снижением уровня воспалительных процессов на протяжении жизни. Отмечается, что в странах с высоким эндемическим паразитизмом до 52 % детей имеют повышенный до 6 мг/л и более уровень С-реактивного белка в сыворотке крови, что во много раз выше, чем у детей в США.



Взрослые, страдающие СПИД, туберкулезом, малярией и периодонтозом, также имеют повышенный уровень С-реактивного белка и IL-6 в сыворотке крови, что повышает риск инфарктов миокарда и инсульта. Поскольку сильный ответ на инфекцию важен для борьбы с инфекцией, высокий уровень С-реактивного белка и других маркеров воспалительной реакции являются функциональными, когда уровень инфекции высок. Однако хроническая инфекция может приводить к хроническому воспалительному статусу, что способствует развитию атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний (Finch, Crimmins, 2004, 2006).

Предложенная модель также включает важную связь между материнской инфицированностью и воспалением, с одной стороны, воспалением и ростом у плода и новорожденного — с другой. Материнские инфекции, включая грипп, малярию и туберкулез, часто встречались в Европе и США в середине XX века. Ребенок и мать с инфекцией могли иметь повышенный уровень маркеров воспаления в крови и замедленный внутриутробный рост. Субоптимальное здоровье женщины может трансгенерационно оказывать импринтинг инфекций и воспаления, а также недостаточного питания, тем самым увеличивая риск рождения маленьких плодов со сниженной резистентностью к патогенным факторам окружающей среды. Этот дополнительный фактор соответствует наблюдениям, что снижение детской смертности запаздывает за снижением взрослой смертности (Crimmins, Finch, 2006).

Комментируя вывод С. F. Finch и Е. М. Crimmins (2004) о том, что имеется более высокий уровень связи между уровнем смертности в возрасте 70 лет с детской смертностью 70 лет тому назад, чем с современным уровнем детской смертности, Е. Barbi и J. W. Vaupel (2005) приводят результаты сравнения ранней и поздней смертности в Швеции и Италии за тот же период и указывают, что в комментируемой работе имеет место переоценка эффекта. В противоположность предсказаниям воспалительной гипотезы, когортная корреляция была слабейшей, когда уровень детской смертности был наивысшим. В любом случае корреляция уровней смертности в двух возрастах не свидетельствует об их причинной связи. Авторы полагают, что влияние периода более важно, чем когортный эффект.

С. F. Finch и Е. М. Crimmins (2004) заканчивают свою работу рассуждениями о том, что «будущее увеличение ожидаемой продолжительности жизни, связанное с уменьшением воспаления, может быть относительно небольшим, особенно в популяциях, в которых низок уровень детских инфекций в течение многих десятилетий...». У некоторых читателей, замечают Е. Barbi и J. W. Vaupel (2005), может сложиться ложное впечатление, что дальнейшее увеличение ожидаемой продолжительности жизни в развитых странах, вероятно, будет медленным. В течение последних двух веков ожидаемая продолжительность жизни увеличивалась в результате действия нескольких факторов, таких как победа над некоторыми острыми заболеваниями, снижением смертности от многих хронических заболеваний. В середине XX века, когда смертность новорожденных и детей достигла очень

низкого уровня, начали уменьшаться показатели смертности для людей пожилого и старческого возраста (Oerren, Vaupel, 2002). Очевидно, что будущее увеличение ожидаемой продолжительности жизни не будет в большой мере связано с уменьшением причин воспалений в детском возрасте. Вероятнее всего, дальнейшее улучшение будет определяться успехами в борьбе с болезнями пожилого и старческого возраста, включая рак, сердечно-сосудистые заболевания и болезнь Альцгеймера. Успехи генетики позволят индивидуализировать такие вмешательства.

### Литература

- Дильман В. М. Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.
- Комаров Ф. И., Рапопорт С. И., Малиновская Н. К., Анисимов В. Н. Мелатонин в норме и патологии. М.: ИД Медпрактика-М., 2004. 308 с.
- Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Бутенко Г. М., Шатило В. Б. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002. 202 с.
- Полякова В. О., Кветной И. М. Тимус и старение. СПб.: Система, 2004. 102 с.
- Полякова В. О., Кветной И. М., Хавинсон В. Х. и др. Тимус и старение // Успехи геронтолог. 2001. Т. 8. С. 50—57.
- Романюха А. А., Яшин А. И. Математическая модель возрастных изменений в популяции периферических Т-лимфоцитов // Успехи геронтолог. 2001. Т. 8. С. 58—69.
- Санникова Т. Е., Марчук Г. И., Романюха А. А., Яшин А. И. Старение системы иммунитета и динамика смертности. Анализ роли антигенной нагрузки // Успехи геронтолог. 2003. Вып. 12. С. 91—98.
- Семенов В. Ф., Карандашов В. И., Ковальчук Л. В. Иммуногеронтология: Руководство для врачей. М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. 208 с.
- Фрейдлин И. С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей. СПб: НТФФ Полисан, 1998. 113 с.
- Ярилин А. А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 607 с.
- Anisimov V. N., Khavinson V. K., Mikhalski A. I., Yashin A. I. Effect of synthetic thymic and pineal peptides on biomarkers of ageing, survival and spontaneous tumour incidence in female CBA mice // Mech. Ageing Dev. 2001a. Vol. 122. P. 41—68.
- Anisimov V. N., Khavinson V. K., Morozov V. G. Immunomodulatory synthetic dipeptide L-Glu-L-Trp slows down aging and inhibits spontaneous carcinogenesis in rats // Biogerontology. 2000. Vol. 1. P. 55—59.
- Barbi E., Vaupel J. W. Comment on «Inflammatory exposure and historical changes in human life-spans» // Science. 2005. Vol. 308. P. 1743a—1744a.
- Barker D. J. The developmental origins of well-being // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 2004. Vol. 359. P. 1359—1366.
- Blackwell D., Hayward M., Crimmins E. M. Does childhood health affect chronic morbidity in later life? // Soc. Sci. Med. 2001. Vol. 52. P. 1269—1284.
- Conboy I. M., Conboy M. J., Wagers A. J. et al. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic microenvironment // Nature. 2005. Vol. 433. P. 760—764.
- Crimmins E. M., Finch C. E. Infection, inflammation, height, and longevity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103. P. 498—503.
- Danesh J., Wheeler J. G., Hirschfield G. M. et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease // New Engl. J. Med. 2004. Vol. 359. P. 1387—1397.
- De Benedictis G., Franceschi C. The unusual genetics of human longevity // Sci. Aging Knowledge Environ. 2006. Vol. 10. P. 20.
- Dejaco C., Duftner C., Schirmer M. Are regulatory T-cells linked with aging? // Exp. Gerontol. 2006. Vol. 41. P. 339—345.

- DelaRosa O., Pawelec G., Paralbo E. et al.* Immunological biomarkers of ageing in man: changes in both innate and adaptive immunity are associated with health and longevity // *Biogerontology*. 2006. Vol. 7. P. 471—481.
- Dilman V. M.* Ageing, metabolic immunodepression and carcinogenesis // *Mech. Ageing Dev.* 1978. Vol. 8. P. 153—173.
- Fabris N.* Neuroendocrine-immune interactions: a theoretical approach of aging // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1991. Vol. 12. P. 212—230.
- Fabris N., Mocchegiani E., Muzzioli M., Provincialli M.* Zinc, immunity and aging. // A. L. Goldstein (ed.). *Biomedical Advances in Aging*. N. Y.; London: Plenum Press, 1990. P. 271—281.
- Fagiolo U., Amadori A., Cozzi E. et al.* Humoral and cellular immune response to influenza virus vaccination in aged humans // *Aging (Milano)*. 1993. Vol. 5. P. 451—458.
- Finch C. E., Crimmins E. M.* Inflammatory exposure and historical changes in human life-spans // *Sciences*. 2004. Vol. 305. P. 1736—1739.
- Forsdahl A.* Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? // *Br. J. Prev. Soc. Med.* 1977. Vol. 31. P. 91—95.
- Franceschi C., Bonafe M., Valensin S. et al.* Inflammo-aging: An evolutionary perspective on immunesenescence // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000. Vol. 908. P. 244—254.
- Franceschi C., Capri M., Monti D. et al.* Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 92—105.
- Franceschi C., Monti D., Sansoni P. et al.* The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians // *Immunol. Today*. 1995. Vol. 16. P. 12—16.
- Franceschi C., Valensin S., Lescai F. et al.* Neuroinflammation and the genetics of Alzheimer's disease: the search for a pro-inflammatory phenotype // *Aging (Milano)*. 2001. Vol. 13. P. 163—170.
- Fulop T., Douziech N., Colet A. C. et al.* Cytodextrin modulation of T lymphocyte signal transduction with age // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1413—1430.
- Fulop T., Larbi A., Douziech N. et al.* Signal transduction and functional changes in neutrophils with aging // *Aging Cell*. 2004. Vol. 3. P. 217—226.
- Fulop T., Larbi A., Douziech N. et al.* Cytokine receptor signalling and aging // *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127. P. 526—537.
- Globerson A., Effros R. B.* Ageing of lymphocytes and lymphocytes in the aged // *Immunol. Today*. 2000. Vol. 21. P. 515—521.
- Globerson A. R., Abel E. I., Ren-Menahem D.* Developmental aspects of T-lymphocytes in aging // A. L. Goldstein (ed.). *Biomedical Advances in Aging*. N. Y.; London: Plenum Press, 1990. P. 363—373.
- Gupta S., Bi R., Su K. et al.* Characterization of naive, memory and effector CD8<sup>+</sup> T-cells: effect of age // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 545—550.
- Hadden J. W.* Thymic endocrinology // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998. Vol. 840. P. 352—358.
- Harrison D. E., Astle C. M., Delaittre J. A.* Lost of proliferative capacity in immunohemopoietic stem cells caused by serial transplantation rather than ageing // *J. Exp. Med.* 1978. Vol. 147. P. 1526—1531.
- Hirokawa K., Utsuyama M.* Animal models and possible human application of immunological restoration in the elderly // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 1055—1063.
- Karasek M.* Melatonin, human aging, and age-related diseases // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 1723—1729.
- Krabbe K. S., Pedersen M., Bruunsgaard H.* Inflammatory mediators in the elderly // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 687—699.
- Larbi A., Dupuis G., Douziech N., Khalil A., Fülöp T.* Low-grade inflammation with aging has consequences for T-lymphocyte signaling // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004. Vol. 1030. P. 125—133.
- Lipschitz D. A.* Nutrition, aging and the immunohematopoietic system // *Clin. Geriatr. Med.* 1987. Vol. 3. P. 319—328.
- Miller R.* Aging and immune function // *Fundamental Immunology*. 4<sup>th</sup> ed. / Ed. W. E. Paul. Philadelphia: Lippincott-Raven Publ., 1999. P. 974—965.

- Moresi R., Tesei S., Costarelli L. et al.* Age- and gender-related alterations of the number and clonogenic capacity of circulating CD34<sup>+</sup> progenitor cells // *Biogerontology*. 2005. Vol. 6. P. 185—192.
- Morozov V. G., Khavinson V. Kh.* Natural and synthetic thymic peptides as therapeutics for immune dysfunction // *Int. J. Immunopharmacol.* 1997. Vol. 19. P. 501—505.
- Nguyen D. H., Espinoza J. C., Taub D. D.* Cellular cholesterol enrichment impair T cell activation and chemotaxis // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125. P. 641—650.
- Oeppen J., Vaupel J. W.* Broke limits to life expectancy // *Science*. 2002. Vol. 296. P. 1029—1031.
- Olivieri F., Antonicelli R., Cardelli M. et al.* Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and myocardial infarction in the elderly // *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127. P. 552—559.
- Ottaviani E., Franceschi C.* The invertebrate phagocytic immunocyte: clues to a common evolution of immune and neuroendocrine systems // *Immunol. Today*. 1997. Vol. 18. P. 169—174.
- Ottaviani E., Franceschi C.* A new theory on the common evolutionary origin of natural immunity, inflammation and stress response: the invertebrate phagocytic immunocyte as an eyewitness // *Domest. Anim. Endocrinol.* 1998. Vol. 15. P. 291—296.
- Pawelec G., Wagner W., Adibzadeh M. et al.* T cell immunosenescence in vitro and in vivo // *Exp. Gerontol.* 1999. Vol. 34. P. 419—429.
- Prinz P. N.* Age impairments in sleep, metabolic and immune functions // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 1739—1743.
- Provinciali M., Fabris N.* Role of pituitary-thyroid axis ob basa and lymphokine-induced NK cell activity in aging // *Int. J. Neurosci.* 1990. Vol. 51. P. 373—375.
- Riley J. C.* *Rising Life Expectancy: A Global Hitroy.* N. Y.: Cambridge Univ. Press, 2001. 243 p.
- Thompson J. S., Robbins J., Cooper J. K.* Nutrition and immune function in the geriatric population // *Clin. Geriatr. Med.* 1987. Vol. 3. P. 309—317.
- Uemura K., Castle S. C., Makinodan T.* The frail elderly: role of dendritic cells in the susceptibility of infection // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 955—962.
- Walford R. L.* *The Immunological Theory of Aging.* Copenhagen: Muksgaard, 1969. 338 p.
- Westendorp R. G.* Are we becoming less disposable? // *EMBO Rep.* 2004. Vol. 5. P. 2—6.
- Wikby A., Nilsson B. O., Forshey R. et al.* The immune risk phenotype is associated with IL-6 in the terminal decline stage: findings from the Swedish NONA immune longitudinal study of very late life functioning // *Mech. Ageing Dev.* 2006. Vol. 127. P. 695—704.
- Zatz M. M., Goldstein A. L.* Thymosins, lymphokines and the immunology of aging // *Gerontology*. 1985. Vol. 31. P. 263—277.

*Часть IV*

**СТАРЕНИЕ И ВОЗРАСТНАЯ ПАТОЛОГИЯ**



## *Глава 10*

### **ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ БИОЛОГИЧЕСКИМ СТАРЕНИЕМ И АССОЦИИРОВАННЫМИ С ВОЗРАСТОМ БОЛЕЗНЯМИ**

Так как истина вечно уходит из рук —  
Не пытайся понять непонятное, друг.

*Омар Хайям*

#### **10.1. ВВЕДЕНИЕ**

Проблеме, предмет которой вынесен в заголовок этой главы, была посвящена горячая дискуссия, которая развернулась на страницах *Journal of Gerontology Biological Sciences / Medical Sciences* и ряда других ведущих геронтологических журналов (Blumenthal, 2003; Butler et al., 2004; Hayflick, 2004, 2007, 2007a; Holliday, 2004). То обстоятельство, что в нее вовлечены столь авторитетные специалисты в области гериатрии и биологии старения, является безусловным свидетельством определенного кризиса, в котором находится геронтология в наше время. Действительно, стремительно растущая популяция пожилых людей как в экономически развитых, так и развивающихся странах, в отсутствие универсальной теории старения привела к стремительному наступлению паранаучных и просто ведомых немедленной материальной выгодой различного толка специалистов по так называемой медицине антистарения, проводящих многочисленные конференции, издающих книги и журналы и, главное, ведущих активную, если не сказать агрессивную, пропаганду различных средств, замедляющих старение и даже омолаживающих человека, что вызывает оправданную обеспокоенность научного сообщества (Butler et al., 2002; Anisimov, 2001, 2006; Голубев, 2003; Haber, 2004; Hayflick, 2004a; Mehlman et al., 2004; Olshansky et al., 2004; Robert, 2004; Анисимов, 2006, 2006а; de Grey, 2007).

Здесь же, не претендуя на полноту охвата проблемы, мы рассмотрим ее современное состояние, уделив основное внимание тем аспектам, которые имеют в конечном счете практическую направленность.

## 10.2. ПОНЯТИЯ «НОРМАЛЬНОГО» И «ПАТОЛОГИЧЕСКОГО» СТАРЕНИЯ

Нет, старость — это лихорадка, бред  
С припадками жестокого озноба.  
Чуть человеку стукнет тридцать лет,  
Он, как мертвец, уже созрел для гроба.

И. В. Гете Фауст. Ч. 1.

Как уже подчеркивалось в предисловии к 1-му изданию книги, в англоязычной литературе используется два термина — *aging* и *senescence*, оба из которых на русский язык переводятся одним словом *старение*. Под старением (aging) понимаются изменения, наблюдающиеся в течение жизни, не все из которых обязательно являются неблагоприятными (Finch, 1990). Термином «senescence» С. Е. Finch определяет те возрастные изменения в организме, которые неблагоприятно влияют на его жизнеспособность и функции и вызваны течением биологического времени, т. е. этот термин определяет старение как дегенеративный процесс.

Вопрос, можно ли разделить эти два процесса, т. е. старение без болезней и старение, непосредственно связанное с такими заболеваниями, как рак, болезни сердца и сосудов, остеопороз, остеоартрит, сахарный диабет, и рядом нейродегенеративных болезней (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и др.) (табл. 10.1), продолжает активно обсуждаться в литературе (Blumenthal, 2003). В качестве примеров можно привести высказывания Н. Шока, который писал: «Старение и болезнь не синонимы. Существует процесс старения и этиология болезней. Взаимоотношения между ними важны, но не неизбежны» (Shock, 1961), а также известный афоризм Д. Эванса: «Проводить различие между болезнью и нормальным старением — то же самое, что пытаться отделить неопределенное от неопределяемого» (Evans, 1988).

Таблица 10.1

Основные причины смерти человека, 2003—2004 гг., %

Причины смерти	США*	Россия**
Сердечно-сосудистые болезни	28.9	56.1
Рак	22.7	12.6
Инсульт	6.4	20.4
Хронические заболевания легких	5.1	4.0
Травма	4.5	14.3
Всего умерло, млн человек	2.45	2.30

Примечание. \* — National Vital Statistics Report, 2006; \*\* — Демографический ежегодник России, 2005.



G. Blumental (2003) в статье, названной «Истинна или ложна дихотомия старение — болезнь?», рассматривает историю развития этих двух точек зрения, начиная с высказываний Аристотеля и Цицерона, появления понятия об этиологии, связанного с именами Л. Пастера, Р. Коха и других, установивших в конце XIX—начале XX века роль микроорганизмов как причины некоторых заболеваний. Безусловное доказательство этиологии было основано на проверке постулатов Коха — введение чистой культуры взвешенных микроорганизмов в организм животного приводило к развитию у этих животных болезни, сходной с таковой у человека. Затем последовало установление того факта, что злокачественные новообразования могут быть индуцированы вирусами, воздействием химических канцерогенных веществ или ионизирующей радиацией. В тот же период Н. Н. Аничков показал, что у животных, которые получали высокожировую диету, развивались сосудистые поражения, сходные с таковыми у человека, и получившие затем названия атеросклероза. Эти наблюдения, замечает Блюменталь, дали толчок развитию концепции этиологии болезней, которые в настоящее время называются медией.

Еще в 1865 г. Клод Бернар писал, что «медицина станет наукой лишь тогда, когда мы научимся разделять объяснения патологических [явлений] от объяснения нормальных жизненных феноменов» (Bernard, 1957). В качестве приложения к своей вышеупомянутой статье Г. Блюменталь приводит многочисленные высказывания ряда известных геронтологов, гериатров, геронтопсихологов, в том числе и современных, как в поддержку точки зрения о необходимости различать старение и болезни, так и существенной общности этих феноменов, дополнив высказываниями ученых третьей группы, которые могут трактоваться двояко.

Более полувека тому назад, доминировали два лозунга: «процесс старения» (в единственном числе) и «старение — не болезнь». Первый был основан на представлении, что в конечном счете будет открыт единственный механизм, который сможет объяснить многие и разнообразные проявления старения. Поскольку скоро стало ясно, что не существует единой молекулярной или клеточной причины старения, эта точка зрения была оставлена. Однако выражение «процесс старения» (в единственном числе) часто употребляется и в настоящее время.

### **10.3. КРИТЕРИИ ОТЛИЧИЯ НОРМАЛЬНОГО СТАРЕНИЯ ОТ АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОЗРАСТОМ БОЛЕЗНЕЙ**

B. Strehler (1985) предложил пять критериев для отличия биологического старения от ассоциированных с возрастом болезней: эндогенность (intrinsic), универсальность, необратимость, прогрессивность и генетическая программированность.

Часть этих критериев имеет историческое значение и оставлена, поскольку установлено:

- большое разнообразие в проявлениях биологического старения;
- что проявления старения не являются генетически детерминированными (более того, старению присуща генетическая нестабильность);
- что болезни (как в случае биологического старения), если их не лечить, прогрессивны и необратимы.

Признавая трудности в определении термина старения, многие авторы предлагают менее строгое определение биологического старения как несостоятельность гомеостатических систем, приводящих к увеличению риска смерти (Adelman, 1980; Gerhard, Cristofalo, 1993). М. Rose (1991), полагает, что старение есть постоянное снижение с возрастом компонентов здоровья организма, вызванное внутренними физиологическими нарушениями.

Заслуживают внимания определения старения и их взаимоотношения с ассоциированными с возрастом болезнями, которые были даны отечественными учеными. Еще И. И. Мечников писал: «Старость наша есть болезнь, которую надо лечить как всякую другую», — понимая под старостью, скорее те заболевания, которые развиваются в этот период (Мечников, 1988). Н. Н. Горев и др. (1963) подчеркивали: «Представление о старости как о болезни открывает двери неправильному пониманию сущности жизни как закономерного вида движения материи. Болезни старости не следует путать с физиологическим процессом старения». По мнению В. В. Фролькиса и Х. К. Мурадяна (1992), старение — разрушительный процесс, ведущий к гибели клеток и недостаточности функций, к ограничению адаптационных возможностей организма, снижению его надежности, развитию возрастной патологии, увеличению вероятности смерти».

В. М. Дильман (1987) полагал, что «невозможно провести разграничительную линию между старением и нормальными болезнями, сцепленными со старением, так как программа развития непосредственно без стабилизации трансформируется в механизм старения, ведущий в конечном итоге к прекращению существования индивида». Под нормальным старением В. М. Дильман (1987) понимал сумму и переплетение десяти главных болезней, порождаемых онтогенетическими и аккумуляционными механизмами, а старение определял как саму универсальную болезнь. К главным (нормальным) болезням он относил климакс, гиперадаптоз, ожирение, предродиабет, атеросклероз, метаболическую иммунодепрессию, гипертоническую болезнь, психическую депрессию и канкрофилию, как условия для возникновения рака.

Развивая представления о цитомединах, В. Х. Хавинсон определяет старение как эволюционно детерминированный биологический процесс возрастного изменения экспрессии и структуры генов, следствием которого является нарушение синтеза регуляторных тканеспецифических пептидов в различных органах и тканях, вызывающее их структурно-функциональные изменения и развитие заболеваний (Хавинсон, Калинин, 2002). Близко к нему определение старения как реализацию генетической программы, кото-

рая представлена в геноме в неявном виде, определяющая тот или иной механизм самоуничтожения особи (Бойко, 2007).

Г. Блюменталь подчеркивает, что предложенные Б. Стрелером критерии эндогенности и универсальности до настоящего времени заслуживают внимания, поскольку они могут служить основой для различения между биологическим старением и ассоциированными с возрастом заболеваниями (Blumenthal, 2003). Универсальность в отношении этих двух феноменов можно рассматривать в двух аспектах: универсальность для всех видов и универсальность внутри вида. Примеры поразительного различия проявлений старения в живой природе весьма многочисленны, причем есть виды, у которых практически отсутствуют видимые признаки старения и они сохраняют репродуктивную способность в течение всей жизни (Finch, 1998, 1990). В то время как биологическое старение универсально для всех млекопитающих, следует признать, что не существует заболевания, которое было бы причиной смерти у всех без исключения старых индивидов. Вместе с тем сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания, рак и деменция, взятые вместе, могут претендовать на универсальность. Данные аутопсии очень старых людей свидетельствуют о том, что амилоидоз может быть универсальным проявлением старения (Blumenthal, 2002).

Попытки разделить нормальное и патологическое старение основаны на следующих соображениях:

- любая болезнь в течение жизни индивида может дать дополнительные повреждения или толчок старению;
- некоторые заболевания весьма распространены в популяции пожилых и старых людей, поскольку агрессивная внешняя среда вызывает эти болезни после длительного латентного периода, или потому что необходимы многократные воздействия (эффект дозы);
- наиболее частые болезни пожилого возраста являются следствием возрастного ослабления критических защитных механизмов, что в конечном счете позволяет реализоваться действию экзогенных факторов.

Наиболее существенной попыткой решить этот вопрос непосредственным наблюдением можно назвать продолжающийся уже более 40 лет Балтиморский лонгитудинальный проект по старению (Baltimore Longitudinal Study on Aging, BLSA) Национального института старения США, в рамках которого ведутся регулярные исследования множества параметров у отобранных здоровых индивидуумов (The Aging Factor..., 1999; Butler et al., 2004). Поскольку возрастная динамика показателей весьма варьирует от индивидуума к индивидууму, практически невозможно оценить «степень старения» отдельного человека, основываясь на измерении одного или нескольких биохимических, физиологических или физических показателей. Следствием этой вариабельности является отсутствие до настоящего времени универсальной батареи тестов для определения биологического возраста, который был бы более надежен, чем хронологический возраст (см. главу 18). Другим важным наблюдением BLSA была констатация того факта, что большинство измеряемых показателей изменялось с возрас-

том постепенно, а не скачкообразно. Это наблюдение позволяет предполагать, что скачкообразные изменения более свойственны развитию ассоциированной с возрастом патологии. Аналогичные изменения на большой когорте мужчин обнаружены и в другом исследовании (O'Donnell et al., 2004).

Различают по крайней мере два типа такой ассоциации: заболевания, связанные со старением (aging-dependent), и заболевания, связанные с возрастом (age-dependent) (Brody, Schneider, 1986). Так, некоторые генетически детерминированные заболевания (например, болезнь Хантингтона), являются возраст-зависимыми, поскольку проявляются в предсказуемом возрасте и определено не могут быть названы нормальным старением. Однако возрастные изменения, которые связаны с нормальным старением, могут играть существенную роль в развитии той или иной патологии. Поэтому весьма важно различать возрастные изменения: а) не являющиеся патологией (например, поседение волос), б) изменения, которые могут способствовать развитию одного или нескольких патологических процессов (например, накопление оксидативных повреждений) и в) изменения, которые могут вызывать или быть показателем патологических процессов (например, образование амилоидных бляшек в мозге как фактор риска болезни Альцгеймера). Разграничение этих процессов необходимо для определения приоритетов при разработке мер предупреждения преждевременного старения и развития возрастной патологии (Butler et al., 2004).

L. Hayflick (2004, 2007, 2007a) полагает, что многие проблемы современной геронтологии и гериатрии происходят из-за отсутствия точного понимания различий между *тремя* феноменами, определяющими продолжительность жизни, а именно собственно старением, ассоциированными с возрастом болезнями и факторами, определяющими долголетие. Он указывает, что в отличие от любой болезни, возрастные изменения:

- а) наблюдаются у всех многоклеточных организмов, которые к моменту полового созревания достигают вполне определенного размера;
- б) наблюдаются у всех видов животных;
- в) наблюдаются у всех представителей вида только после возраста полового созревания;
- г) наблюдаются у всех животных, изъятых из дикой природы и защищенных человеком, даже если у этого вида не было старения в течение тысяч и даже миллионов лет до этого;
- д) наблюдаются как у всех одушевленных, так и у всех неодушевленных объектов;
- е) имеют универсальную молекулярную этиологию, а именно термодинамическую нестабильность.

В отличие от старения ни одна болезнь не удовлетворяет всем шести признакам.

Фундаментальная причина этих молекулярных нарушений имеет своими корнями внутреннюю нестабильность самых комплексных биологических молекул, точная трехмерная структура которых должна поддерживать-

ся с большой точностью для нормального функционирования. Эти нестабильности уже десятилетия как описаны и ассоциированы с энергетикой, например, водородных связей, ковалентных связей и ван-дер-Ваальсовых сил (Hayflick, 2004, 2007).

Можно привести сотни легко узнаваемых проявлений старения, лишь небольшая доля которых может рассматриваться как патология или болезнь и нуждается в лечении. Среди них поседение волос, морщинистость кожи, увеличение времени реакции, потеря кратковременной памяти, ослабление силы рукопожатия, дальновзоркость, глухота и т. д. (Анисимов, 2005).

По мнению Хейфлика, различие между старением и ассоциированными с возрастом болезнями еще недостаточно осознается, приводя к разделяемому большинством мнению, что выяснение причин тех или иных возрастных заболеваний будет способствовать лучшему пониманию фундаментальных механизмов старения. На самом деле это далеко не так. Выяснение причин и излечимость детского полиомиелита, опухоли Вильмса или железодефицитной анемии не приблизило нас к пониманию процесса развития ребенка. По расчетам, устранение болезни Альцгеймера, на которую тратится более половины бюджета Национального института старения США, увеличит ожидаемую продолжительность жизни примерно на 19 дней (Anderson, 1999), но не приблизит нас сколько-нибудь к пониманию фундаментальной биологии старения.

#### **10.4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕШЕНИЮ ВОПРОСА О ХАРАКТЕРЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ СТАРЕНИЕМ И БОЛЕЗНЯМИ**

R. Holliday (2004) полагает, что различие между зависимыми от возраста изменениями в организме, которые не являются патологией, и теми, которые относят уже к патологии, не столь фундаментальны. Выявление их на ранних стадиях на биохимическом, физиологическом и молекулярном уровнях может служить основанием для профилактики. Действительно, невозможно отрицать, что развитие, например, такой патологии, как заболевание сердца, вызвано изменениями на молекулярном, клеточном, тканевом и системном уровнях, которые обычно рассматриваются как развивающиеся при нормальном старении.

В этой связи эксперименты по увеличению продолжительности жизни могут многое прояснить во взаимоотношениях между старением и ассоциированными с возрастом болезнями. Можно выделить три главных направления в современных исследованиях по увеличению продолжительности жизни человека или идентификации детерминант его долголетия (Blumenthal, 2003). Одно из них связано с гормональной заместительной терапией. В частности, наблюдается экспансия применения таких агентов, как гипофизарный гормон роста, тестостерон, дегидроэпиандростерон (ДГЭА), не-

смотря на возможную опасность их побочных эффектов, как это уже доказано при заместительной гормональной терапии у менопаузальных женщин (U. S. Senate Special Committee..., 2002). Целью второго направления является идентификация генетических и фенотипических характеристик столетних (Franceschi et al., 1995, 2000; Perls, 2001). К третьему направлению можно отнести исследования по увеличению продолжительности жизни у грызунов и приматов (Weindruch et al., 2001; Roth et al., 1999). Подробно эти вопросы рассмотрены в главе 15.

Изменения у животных, содержащихся на калорийно ограниченной диете, часть из которых обнаружена у приматов и столетних, включают уменьшение уровня триглицеридов и мелатонина, снижение окислительных повреждений, повышение толерантности к глюкозе, снижение уровня инсулина в плазме крови и уровня ДГЭА. На этих результатах основан поиск миметиков ограничения калорийности питания (Weindruch et al., 2001; Roth et al., 1999; Анисимов, 2003). Как заметил Е. J. Masoro (2003), ограничение калорийности питания не устраняет ассоциированные с возрастом болезни, а только замедляет или отодвигает их начало, тем самым поддерживая точку зрения о роли активных форм кислорода (АФК) и продуктов глубокого гликозилирования белков и ДНК в развитии болезней. (Подробно вопрос о влиянии ограниченной калорийно диеты рассмотрен в главе 14).

Л. Hayflick (2004) указывает на необходимость различать процесс старения и процессы, определяющие долголетие. Потенциал долголетия, по его мнению, определяется энергетикой всех молекул, присутствующих во время и после времени полового созревания.

Каждая молекула, включая также те, что участвуют в метаболизме, поддержании структуры и репарации, являются субстратом термодинамической нестабильности. Именно нестабильность, как подчеркивает автор, является отличительной чертой старения. Детерминанты идентичности всех молекул, образованных как до, так и после полового созревания, конечно же, управляются геномом. Однако стохастически развивающийся после этого процесс снижения точности воспроизведения молекул инициирует процесс старения (Hayflick, 2000). По его мнению, в отличие от стохастически развивающегося процесса старения ограничение долголетия не является случайным процессом. Он обеспечен избытком или резервами физиологических способностей, достигнутых ко времени полового созревания, что посредством естественного отбора привело к увеличению гарантии дожития до старости. Таким образом, детерминанты долголетия являются случайными по отношению к достижению репродуктивной зрелости и напрямую образом определяются геномом.

Среди трех аспектов завершения жизни человека только один успешно подвергается манипуляциям, приводящим к увеличению ожидаемой продолжительности жизни. Этот аспект заключается в устранении, замедлении или излечении болезней. Однако никто не может продемонстрировать сегодня, как можно повлиять на старение или факторы, определяющие долголетие.

С 1900 г., когда ожидаемая продолжительность жизни при рождении была 49 лет, до настоящего времени в развитых странах наблюдается ее увеличение на 27 лет (Crimmins et al., 1994; Minino et al., 2002). Такое же увеличение ожидаемой продолжительности жизни произошло за предыдущие 2000 лет истории человечества. Этот рост вызван кардинальным снижением смертности от детских инфекционных заболеваний и обусловлен повсеместным улучшением гигиены, изобретением антибиотиков и вакцин. В то же время, хронические болезни, такие как сердечно-сосудистые, инсульт и рак, все еще остаются серьезной проблемой.

21 из 27 лет увеличения ожидаемой продолжительности жизни в XX веке имели место в его первые 70 лет. Только 6-летнее увеличение ожидаемой продолжительности жизни наблюдалось в последние годы столетия (Crimmins et al., 1994; Minino et al., 2002). Для увеличения еще на 10 лет, которое ожидается в США в течение ближайших 50 лет, смертность должна будет снижена до уровня, который никогда прежде не был достигнут (Olshansky et al., 2001). (Подробнее вопрос о современных демографических тенденциях см. главу 16).

Все достижения биомедицинских исследований и их прикладные результаты привели к увеличению ожидаемой продолжительности жизни лишь на 15 лет (Anderson, 1999). Если устранить все причины смерти, указываемые сегодня в сертификатах о смерти, мы сможем тогда выявить, как полагает L. Hayflick (2004a), основную причину всех ассоциированных с возрастом болезней, которая характеризует сам процесс старения. Мы не станем бессмертными, потому что неуклонный процесс утраты физиологических возможностей (отличительная черта старения) будет вызывать больше смертей. Потребуется новые критерии для обозначения специфических повреждений органов. По определению, они не будут включать лидирующие причины смерти, в настоящее время указываемые наиболее часто в сертификатах о смерти, но будут описания большинства смертей как снижение или полная утрата функции некоторых жизненно важных органов. Только небольшая часть смертности в развитых странах в будущем не будет связана с самим процессом старения (Hayflick, 2004a).

Достигнув успеха в устранении лидирующих причин смерти, мы столкнемся с перспективой увеличения ожидаемой продолжительности жизни, которая будет ограничена возможностью воздействовать на сам процесс старения или на детерминанты долголетия. Вероятность таких воздействий весьма отдалена.

Однако общая вера, что маскировка возрастных изменений эквивалентна вмешательству в фундаментальный процесс старения, продолжает приводить к большим заблуждениям и неправильному пониманию (Hayflick, 2004a). Маскировка возрастных изменений эквивалентна облегчению симптомов, но не лечению болезни, т. е. является паллиативом. Паллиативы, предназначенные для коррекции возрастных изменений, могут тешить тщеславие, но не влияют на основной процесс. Л. Хейфлик остроумно замечает, что можно быть даже немного недовольными степенью тех усилий, с ко-

торами медицина антистарения старается просто косметически скрыть непатологические изменения, связанные со старческим фенотипом. Возражения «прикрытию» возрастных изменений равносильны утверждению, что неправильно использовать косметику для соответствия некоторым критериям красоты, выбирать одежду, которая делает тебя моложе или старше, использовать обувь на высокой подошве, чтобы выглядеть выше, или использовать гормон роста, чтобы действительно вырасти.

Многие авторы сегодня серьезно обеспокоены тем, что другим «прикрытием», которое не требует хирургического вмешательства, может быть продукция огромной индустрии антистарения, которая под видом пищевых добавок может легально производить то, что обозначается как средства «омоложения», замедляющие или останавливающие старение (Butler et al., 2002; Anisimov, 2001; Анисимов, 2003, 2006, 2006а; Голубев, 2003; Haber, 2004; Hayflick, 2004а; Mehlman et al., 2004; Olshansky et al., 2004; Robert, 2004; Мукутын, 2006). Эти пропагандируемые вмешательства никогда не были подтверждены доказательствами изменений в фундаментальных механизмах старения, если они вообще имеют эффект, но могут маскировать, замедлять или задерживать некоторые поверхностные, непатологические изменения, связанные со старением. Такие воздействия служат веревке или тщеславию больше, чем они удовлетворяют законным медицинским требованиям. К этому классу лекарств или «косметических» средств относятся продукты, которые рекламируются как устраняющие морщинистость кожи, удаляющие старческую пигментацию, вызывающие потемнение волос, удаление нежелательной волосистости или восстановление их на облысевшей голове. Другие вмешательства, такие как использование линз для коррекции дальновидности или слуховых аппаратов для коррекции глухоты, являются продуктами индустрии, корригирующей ассоциированные с возрастом процессы, которые рассматриваются скорее как неудобства, чем патология. Они также служат коррекции закономерных патологических процессов. Широкое распространение продуктов и услуг, которые маскируют или корригируют непатологические аспекты фундаментальных процессов старения, является одной из причин, почему публика ошибочно верит в то, что мы близки к пониманию фундаментальных процессов старения и созданию средств воздействия на него. На самом деле это далеко не так (Hayflick, 2004а).

Вера, что вмешательство в процесс старения неминуемо станет реальностью, основана на убеждении, что многие значительные достижения в некоторых областях биологии и медицины делают возможными очень скорое такое вмешательство. Исследования последних лет, выполненные на низших животных, провели к пониманию того обстоятельства, что гены, участвующие в старении, не вызывают остановки или обратимости неизбежно наступающей экспрессии молекулярных нарушений, свойственных старению (Анисимов, 2003). Эти исследования более осторожно интерпретируются как вклад в наше понимание детерминант долголетия, поскольку все экспериментальные воздействия приводят к изменению биологических параметров до начала процесса старения (Hayflick, 2004а). Ни в одном из та-



ких исследований на беспозвоночных не показано, что манипуляциями на генах можно замедлить, остановить или обратить распознаваемые биомаркеры старения (о биомаркерах старения см. главу 18).

Подобно тому как чертеж необходим для производства машины и не содержит информации о причине старения машины, геном необходим для управления биологическим развитием и поддержанием, но необязательно вызывает старение животного. Животное и машина в конечном счете ошибаются, поскольку имеет место термодинамически обусловленная потеря молекулярной идентичности. В живых системах она превышает возможности репарационных систем и приводит к увеличению уязвимости к хищникам, несчастным случаям и патологии. У неживых объектов аналогичные молекулярные механизмы также превосходят возможности ремонта и увеличивают уязвимость по аналогии с необратимой недостаточностью в некоторых живых системах.

Поскольку гены не управляют процессом старения, понимание структуры генома человека, даже большее, чем сегодня, не приведет к проникновению в процесс, который является случайным и осуществляется термодинамически, полагает L. Nauflick (2004a). Следует заметить, что, развивая термодинамическую теорию старения, Г. П. Гладышев (2001) считает, что именно на основе понимания термодинамических процессов, происходящих в организме в процессе старения, возможна разработка средств воздействия, замедляющих или предотвращающих старение (см. главу 2).

Мнение, что старение требует лечения, основано на убеждении, что становиться старым это несчастье. Старение — негативный термин, поскольку означает разрушение, приход различных патологий и смерть. Однако с этим будут не согласны сотни тысяч семидесятилетних людей, которые ведут активный образ жизни, у которых уже нет обязательств по уходу за детьми, имеющие хорошее здоровье и приличный доход. Для них и других, кто верит, что их интеллектуальный рост не остановился, остановка развития в молодом возрасте неприемлема. Более вероятно, что они не боятся старости, но боятся приближающейся смерти, которая мотивирует стремление к продлению жизни. Зачем тогда нужны обширные исследования по старению, если конечная цель — невмешательство в процесс? Исследования по эмбриогенезу плода, развитию в детстве и у взрослых не выполняются с целью понять, как остановить, замедлить или повернуть вспять развитие эмбриона, плода, или рост ребенка. Они выполняются для того, чтобы удовлетворить потребность человека в понимании этих процессов и выяснении, каким образом патология связана с молодыми клетками, и как их роль в процессах развития может быть предотвращена.

Аналогично целью исследований по старению должен быть ответ на такие же фундаментальные вопросы, которые могут дать ключ к пониманию всех тех причин смерти, в настоящее время они обычно вписываются сертификат смерти пожилого человека. Ирония, по мнению Л. Хейфлика, состоит в том, что вопрос также основан на почти повсеместной вере гериатров, что главным фактором риска для основных причин смерти является

старческий возраст. Почему, подчеркивает он, мы тогда не выделяем достаточных ресурсов, для того чтобы лучше понять факторы риска для каждой ассоциированной с возрастом патологии и попытаться ответить на фундаментальный вопрос: «Почему старые клетки более подвержены патологии, чем молодые клетки?»

Подводя итог обсуждению различных точек зрения на проблему различия между нормальным старением и ассоциированными с возрастом заболеваниями, можно согласиться с тем, что развитие фундаментальных наук уже сегодня устанавливает определенные связи между этими феноменами и позволяет наметить приоритеты дальнейших исследований (Butler et al., 2004; Анисимов, 2003.).

В принятой Второй Всемирной ассамблеей ООН по проблемам старения «Программе ООН по исследованиям старения в XXI столетии» (Andrews et al., 2001), подчеркивается, что поскольку ожидаемая при рождении продолжительность жизни во всем мире увеличивается, новой задачей исследований становится обеспечение того, чтобы дополнительные годы жизни были активными, здоровыми и продуктивными. Лучшее понимание фундаментальных механизмов старения и факторов долголетия, а также ассоциированных с возрастом болезней, имеет фундаментальное значение для реализации полного потенциала здорового старения.

Прогноз дальнейшего увеличения доли лиц пожилого и старческого возраста, долгожителей и столетних в ближайшие 50 лет вполне определен (Kalache, Gatti, 2003). Нельзя не согласиться с мнением, что изучение старения, геронтологии должно стать центральной дисциплиной в клинической медицине, поскольку чем лучше мы будем понимать причины старения и ассоциированной с возрастом патологии, тем надежнее будут меры предупреждения преждевременного старения и болезней пожилого возраста (Holliday, 2004). И, добавим, меньше будет оснований для дискуссий, типа «Будет ли удвоение продолжительности жизни позитивным или негативным для нас как индивидуумов и для общества в целом?» (Stock, Callahan, 2004).

### *Л и т е р а т у р а*

*Анисимов В. Н.* «Медицина антистарения»: мифы, реальность, перспективы // *Клинич. геронтол.* 2006. Т. 12, № 12, С. 51—56.

*Анисимов В. Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003. 468 с.

*Анисимов В. Н.* Рецензия на монографию: В. И. Донцов, В. Н. Крутько, А. А. Подколзин. «Фундаментальные механизмы геропротекции». М.: Биоинформсервис, 2002. 464 с. // *Успехи геронтол.* 2006а. Т. 19. С. 152—157.

*Анисимов В. Н.* Старение и ассоциированные с возрастом болезни // *Клинич. геронтол.* 2005. Т. 11, № 1. С. 42—49.

*Бойко А. Г.* На пути к бессмертию. Этюды к четырем эволюционным эшелонам старения. М.: Белые альвы, 2007. 384 с.

*Гладышев Г. П.* Термодинамическая теория старения выявляет причины старения и смерти с позиций общих законов природы // *Успехи геронтол.* 2001. Т. 7. С. 42—45.

- Голубев А. Г. Биохимия продления жизни // Успехи геронтол. 2003. Т. 12. С. 57—76.
- Горев Н. Н., Фролькис В. В., Фудель-Осипова С. И. Современные представления о старении организма // Механизмы старения / Под ред. Н. Н. Горева, П. Д. Марчука, В. В. Фролькиса и др. Киев: Гос. мед. изд-во УССР, 1963. С. 5—18.
- Дильман В. М. Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.
- Мечников И. И. Этюды оптимизма. М.: Наука, 1988.
- Фролькис В. В., Мурадян Х. К. Старение, эволюция и продление жизни. Киев: Наукова думка, 1992. 336 с.
- Хавинсон В. Х., Малинин В. В. Механизмы героопротекторного действия пептидов // Бюл. экспер. биол. мед. 2002. Т. 133. С. 4—10.
- Adelman R. C. Definition of biological aging // Second Conference on the Epidemiology of Aging / Eds S. G. Haynes, M. Feinleib. Washington, DC: National Institute of Health; 1980. P. 9—13. NIH Publication 80—969.
- Anderson R. N. U.S. Decennial Life Tables for 1989—91. Vol. 1, N 4. United States Life Tables Eliminating Certain Causes of Death. Hayatsville, Maryland: National Center for Health Statistics, 1999. P. 7—8.
- Andrews G. R., Sidorenko A., Andrianova L. F., Anisimov V. N. et al. The United Nation research agenda on ageing for the 21<sup>st</sup> century // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 7—25.
- Anisimov V. N. Life span extension and cancer risk: myths and reality // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 1101—1136.
- Anisimov V. N. Premature ageing prevention: Limitations and perspectives of pharmacological interventions // Current Drugs Targets, 2006. Vol. 7, N 11. P. 1485—1503.
- Bernard C. An Introduction to the Study of Experimental Medicine (translated by H. G. Green). N. Y.: Dover Press, 1957. [Original published in 1865].
- Blacklow R. S. Actuarially speaking: an overview of life expectancy. What can we anticipate? // Am. J. Clin. Nutr. 2007. Vol. 86, Suppl. P. 1560S—1562S.
- Blumenthal H. T. The aging-disease dichotomy: true or false? // J. Gerontol. Biol. Sci., 2003. Vol. 58A. P. 138—145.
- Blumenthal H. T. The autopsy in gerontological research: a retrospective // J. Gerontol. Med. Sci. 2002. Vol. 57A. P. M433—M437.
- Brody J. A., Schneider E. L. Diseases and disorders of aging: an hypothesis // J. Chronic Dis. 1986. Vol. 39. P. 871—876.
- Butler R. N., Fossel M., Harman M. et al. Is there an antiaging medicine? // J. Gerontol. Biol. Sci. 2002. Vol. 57A. P. B333—B338.
- Butler R. N., Warner H. R., Williams T. F. et al. The aging factor in health and disease: the promise of basic research on aging // Aging Clin. Exp. Res. 2004. Vol. 16. P. 104—111.
- Crimmins E. M., Hayward M. D., Saito Y. Changing mortality and morbidity rates and the health status and life expectancy of the older population // Demography. 1994. Vol. 31. P. 159—175.
- De Grey A. D. N. J. The natural biogerontology portfolio. «Defeating aging» as a multi-stage ultra-grand challenge // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2007. Vol. 1100. P. 409 — 423.
- Evans J. G. Aging and disease // Research and the Aging Population / Eds D. Evered, J. Whalen. Chichester: Wiley. 1988. P. 38—57.
- Finch C. E. Longevity, Senescence, and the Genome. Chicago: Univ. Chicago Press, 1990. 922 p.
- Finch C. E. Variations in senescence and longevity including the possibility of negligible senescence // J. Gerontol. Biol. Sci. 1998. Vol. 53A. P. B235—B230.
- Franceschi C., Monti D., Sansoni P. et al. The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians // Immunol. Today. 1995. Vol. 16. P. 12—16.
- Franceschi C., Valensin S., Bonafe M. et al. The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives // Exp. Gerontol. 2000. Vol. 35. P. 879—896.
- Gerhard G. S., Cristofalo V. J. The limits of biogerontology // The Biology of Aging / Eds R. L. Sprott, H. R. Warner, T. F. Williams. N. Y.: Springer, 1993. P. 107—118.
- Gjonca A., Brockmann H., Maier H. Old-age mortality in Germany prior to and after reunification // Demographic Res. 2000. Vol. 3. P. 1—29.

- Haber C.* Life extension and history: the continual search for the Fountain of Youth // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 515—522.
- Hayflick L.* «Anti-aging» is an oxymoron // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 573—578.
- Hayflick L.* New approaches to old age // *Nature.* 2000. Vol. 403. P. 365.
- Hayflick L.* The not-so-close relationship between biological aging and age-associated pathologies in humans // *J. Gerontol. Biol. Sci.*, 2004a. Vol. 59A. P. 547—550.
- Hayflick L.* Biological aging is no longer an unsolved problem // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007. Vol. 1100. P. 1—13.
- Hayflick L.* Entropy explains aging, genetic determinism explains longevity, and undefined terminology explains misunderstanding both // *PLoS Genet.* 2007a. 3(12): e220. doi:10.1371/journal.pgen.0030220.
- Holliday R.* The close relationship between biological aging and age-associated pathologies in humans // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 543—546.
- Kalache A., Gatti A.* Active ageing: a policy framework // *Успехи геронтол.* 2003. Т. 11. С. 7—18.
- Masoro E. J.* Subfield history: Caloric restriction, slowing aging, and extending life // *Science's SAGE KE*, 2003, ns2 (26 February 2003). <http://Sageke.sciencemag.org/cgi/content/full/sageke;2003/8/re2>.
- Mehlman M. J., Binstock R. H., Juengst E. T. et al.* Anti-aging medicine: can consumers be better protected? // *Gerontologist.* 2004. Vol. 44. P. 304—310.
- Minino A. M., Arias E., Kocharek K. D. et al.* Deaths: Final Data for 2000. National Vital Statistics Reports. 2002. Vol. 50, N 15. DHHS Publication No. (PHS) 2002-1120 PRS 02-0583 (9/2002).
- Mykityn C. E.* Contentious terminology and complicated cartography of anti-aging medicine // *Biogerontology.* 2006 Aug. Vol. 7, N 4. P. 279—285.
- O'Donnell A. B., Araujo A. B., McKinlay J. B.* The health of normally aging men. The Massachusetts Male Aging Study (1987—2004) // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 29. P. 975—984.
- Olshansky S. J., Carnes B. A., Desesquelles A.* Prospects for human longevity // *Science.* 2001. Vol. 291. P. 1491—1492.
- Olshansky S. J., Hayflick L., Perls T. T.* Anti-aging medicine: the hype and the reality — Part I // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 513—514.
- Perls T.* Genetic and phenotypic markers among centenarians // *J. Gerontol. Med. Sci.* 2001. Vol. 56A. P. M67—M69.
- Robert L.* The tree avenues of gerontology: from basic research to clinical gerontology and anti-aging medicine. Another French paradox // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 540—542.
- Rose M. R.* *Evolutionary Biology of Aging.* N. Y.: Oxford Univ. Press, 1991. 221 p.
- Roth G. S., Ingram D. K., Cutler R. G., Lane M. A.* Biological effects of caloric restriction in primates // *Успехи геронтол.* 1999. Т. 3. С. 116—120.
- Shock N. W.* Physiological aspects of aging in man // *Ann. Rev. Physiol.* 1961. Vol. 23. P. 97—122.
- Stock G., Callahan D.* Point-counterpoint: Would doubling the human life span be a net positive or negative for us either as individuals or as a society? // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 2004. Vol. 59A. P. 554—559.
- Strehler B. L.* Aging: a challenge to science, society, and the individual // *Clin. Geriatr. Med.* 1985. Vol. 1. P. 5—13.
- The Aging Factor in Health and Disease. Workshop Report. N. Y.: International Longevity Center, USA, Ltd., 1999. 24 p.
- U. S. Senate Special Committee on Aging. Swindlers, hucksters and snake moil salesmen: The hype and hope of marketing anti-aging products to seniors. Hearing held in Washington, DC, September 10, Retrived June 13, 2002, from <http://www.aging.senate.gov/events/091001.htm>.
- Weindruch R., Kayo T., Lee C. K., Prolla T. A.* Microarray profiling of gene expression in aging and its alteration by caloric restriction in mice // *J. Nutr.* 2001. Vol. 131. P. 918S—923S.

## Глава 11

### СТАРЕНИЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Не обольщайся призраком покоя:  
Бывает жизнь обманчива на вид.  
Настанет час, и утро роковое  
Твои мечты, сверкая, ослепит.

*Николай Заболоцкий*

#### 11.1. ВВЕДЕНИЕ. ГИПОТЕЗЫ О ВЗАИМОСВЯЗИ РАКА И СТАРЕНИЯ

Рак — одна из наиболее частых причин инвалидности и смерти у пожилых: более половины всех злокачественных новообразований выявляется у лиц старше 70 лет (Dix, Cohen, 1999; Parkin et al., 2001; Рак у пожилых, 2004). Однако до настоящего времени характер взаимоотношений между старением и раком во многом остается неясным, как не выяснены и механизмы возрастного увеличения частоты опухолей. Существуют три основные гипотезы на этот счет. Согласно первой из них возрастное увеличение частоты рака является следствием длительного воздействия канцерогенных факторов. Другими словами, необходимо время (часто годы) для последовательных превращений клетки из нормальной в трансформированную, и поэтому естественно, что он чаще наблюдается в пожилом возрасте (Peto et al., 1975, 1985). По оценке этих авторов частота рака находится в степенной зависимости от длительности экспозиции к канцерогенам, а не от возраста заболевшего. Этому соответствует образное выражение Л. М. Шабада: «Время восполняет дозу». J. Peto (2001) отмечал, что данные эпидемиологических и экспериментальных исследований свидетельствуют в пользу точки зрения, что старение организма само по себе играет небольшую или никакую роль в канцерогенезе. В статье, полемически озаглавленной «Нет такого явления, как старение», R. Peto и R. Doll (1997) подчеркнули, что признание того факта, что многочисленные заболевания, включая рак, обычно развиваются в определенный период жизни, еще не доказывает ни того, что эти заболевания имеют какой-то один общий механизм, ни того, что еще не открыто какое-то единичное универсальное изменение, которое и можно будет назвать «старение». Следует иметь в виду, что рак происходит как клон из одной поврежденной клетки, тогда как старению подвержены все ткани организма (Cairns, 1982).

Согласно второй гипотезе, изменения, развивающиеся по мере старения во внутренней среде организма, способствуют инициации новых опухолей и росту уже существующих, но латентных (дремлющих) трансформированных клеток (Anisimov, 1983, 1987, 1998, 2003, 2007; Miller, 1991, 1993; Dil-

man, 1994; Rubin, 2001; Анисимов, 1997, 2002). Эти механизмы включают клеточное (репликативное) старение, поскольку стареющие клетки становятся резистентными к апоптозу (Campisi et al., 2001) и продуцируют ряд факторов, которые стимулируют рост эпителиальных клеток, несущих опухолевые мутации (Krtolica et al., 2001; Campisi, 2005).

Согласно третьей гипотезе предрасполагающий к раку фенотип пожилых людей может отражать комбинацию действия кумулятивной мутационной нагрузки, нарастания эпигенетически обусловленного функционального «молчания» генов, дисфункции теломер и нарушения гомеостаза стромы (DePinho, 2000). R. A. DePinho считает, что возрастная дисфункция теломер может быть ведущей среди нескольких механизмов, определяющих канцерогенез в эпителиальных тканях человека. Его модель хорошо согласуется с известными данными о механизмах активации теломеразы и роли генетических нарушений на различных стадиях многостадийного процесса канцерогенеза у человека, особенно в молочной железе и толстой кишке. Выяснение причин возрастного увеличения частоты рака, возможно, даст ключ к разработке стратегии первичной профилактики злокачественных новообразований.

## **11.2. ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И ЧАСТОТА СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АСПЕКТ**

Как уже упоминалось в предыдущем разделе, одна из гипотез, объясняющих механизм возрастного увеличения частоты опухолей, постулирует, что этот феномен обусловлен накоплением с возрастом эффективной дозы канцерогена и/или увеличением времени экспозиции к нему (Peto et al., 1975). Эта гипотеза основывается на хорошо известной в онкологии зависимости между дозой канцерогена и временем, необходимым для развития опухоли:  $Dt^n = \text{const}$ , где  $d$  — ежедневная доза канцерогена,  $t$  — средний латентный период опухоли,  $n$  — константа. Соответственно предполагается, что все индуцированные эндогенными или экзогенными факторами повреждения, ведущие к злокачественной трансформации, суммируются независимо от возраста животного в момент воздействия канцерогена, т. е. полученная эффективная доза канцерогена за единицу времени есть величина, постоянная для любого возраста, а вероятность возникновения спонтанных опухолей, т. е. условно тех, инициация которых вызвана не известными экзогенными или эндогенными факторами, а случайными, стохастическими повреждениями, будет тем выше, чем больше продолжительность индивидуальной жизни организма и соответственно средняя продолжительность жизни в популяции.

Для решения этой принципиально важной проблемы необходимо установить, имеется ли положительная корреляция между частотой спонтанных

опухолей и продолжительностью жизни: 1) вида; 2) животных отдельных линий одного вида; 3) животных в отдельных популяциях одной линии или разводки.

### 11.2.1. Продолжительность жизни вида и рак

Продолжительность жизни живых организмов в процессе эволюции существенно увеличивалась, и в определенной мере это увеличение было пропорционально филогенетическому усложнению (Cutler, 1978). Рассмотрим сначала опухолевый процесс в эволюционном аспекте. Данные сравнительной онкологии свидетельствуют о широком распространении спонтанных новообразований в животном мире. Опухолевый рост свойственен всем Metazoa (Худолей, 1976; Манских, 2004). Указывается, что частота подверженности развитию опухолей увеличивается с высотой филогенетического положения (табл. 11.1). В крупных таксонах это наиболее выражено в типах и менее — в классах. В пределах же одного класса опухоли примерно с одинаковой частотой обнаруживаются в разных отрядах.

У низших беспозвоночных спектр возникающих новообразований чрезвычайно однообразен; у более высокоорганизованных животных возрастает как частота опухолей отдельных локализаций, так и их многообразие (табл. 11.2). Эта тенденция прослеживается не только в крупных таксонах, каковыми являются типы, но и в более мелких — классах. В. В. Худолей (1976) объясняет эту тенденцию как приобретением в филогенезе новых органов-мишеней, так и все усложняющимися связями организмов со внешней средой, а также эволюцией механизмов интеграции и специализации тканей.

Вместе с тем, как отмечает В. Н. Манских (2004), утверждение В. В. Худолея о появлении опухолей нервной и мышечной тканей в филогенезе хордовых только на стадии образования класса хрящевых рыб априори несостоятельно. Поскольку опухоли этих тканей встречаются значительно реже, чем новообразования кожи и тканей внутренней среды, а нижестоящие в филогенетическом положении классы хордовых изучены в онкологическом отношении явно недостаточно, следует согласиться с В. Н. Манских, вполне логично указывающим, что именно этими двумя обстоятельствами и объясняется отсутствие описаний таких blastom у животных указанных систематических категорий. Он подчеркивает, что наличие оформленных дифферонов уже изначально предполагает возможность образования из них опухолей, а нервная и мышечная ткани, даже у самых примитивных хордовых, являются вполне оформившимися системами. Этот вывод подтверждается наблюдениями о том, что даже у значительно более примитивных плоских червей описаны настоящие опухоли из нервной ткани — типичные ганглионейробластомы, а у кольчатых червей, которые, как полагают, являются филогенетическими предками хордовых, удалось индуцировать с помощью рентгеновского излучения истинные миобластомы (Манских, 2004). Автор отмечает, что ни у одного вида из достаточно изученных в онкологии-

Таблица 11.1

Развитие спонтанных опухолей у животных разных типов  
(Худолей, 1976)

Тип животных	Пищеварительная система	Экскреторная система	Дыхательная система	Кровеносная система	Эндокринная система
Круглоротые					
Плоские черви				++	
Кольчатые черви	+			++	
Моллюски		+		+++	+
Членистоногие	++				
Хордовые				+	+
Хрящевые рыбы	+	+		+++	+++
Костистые рыбы	++	+++	++	+++	+
Амфибии	+	+	++	+	+
Рептилии	++	++	++	+++	+
Птицы	++	+++	+++	+++	+++
Млекопитающие	++				

Таблица 11.1 (продолжение)

Тип животных	Репродуктивная система	Кожа	Пигмент-продуцирующая система	Нервная система	Скелет и мышцы
Круглоротые	+	+			
Плоские черви	+	+	+		+
Кольчатые черви		++	+		+
Моллюски	++		++	++	
Членистоногие					
Хордовые		+	++		++
Хрящевые рыбы	+	+++	+++	++	++
Костистые рыбы	+	++	+++	+	+
Амфибии	+	++	+	+	+
Рептилии	++	++		++	++
Птицы	+++	+++	++	++	++
Млекопитающие					

Примечание. Частота опухолей: + — низкая; ++ — средняя; +++ — высокая.

ческом отношении не найдено ткани, которая совершенно не могла бы дать начало опухолевому росту.

В. Н. Манских (2004) обращает внимание на еще один важный момент, который, по его мнению, имеется во всех эволюционно-онкологических работах и является собой очевидное недоразумение. Речь идет об отождествлении филогенеза таких признаков, как гистологический спектр опухолей, ча-



Таблица 11.2

Тканевое распределение спонтанных опухолей у различных типов животных (Худолей, 1976)

Тип животных	Тип тканей				
	эпидермальные	энтеродермальные	целонефродермальные	эпэндимоглиальные	мезодермальные
Круглоротые			+?		
Плоские черви	+		+		
Кольчатые черви	+	+	+		+
Моллюски	+				++
Членистоногие		++	+	+	+++
Хордовые					
Хрящевые рыбы	+	+			+
Костистые рыбы	+++	++	+	++	+++
Амфибии	++	+	+++	+	+++
Рептилии	++	++	+	+	+
Птицы	++	++	++	++	++
Млекопитающие	+++	++	+++	++	+++

Примечание. Частота опухолей: + — низкая; ++ — средняя; +++ — высокая; ? — сомнительное описание.

стота отдельных гистогенетических типов и общая частота опухолей у данного вида организмов. Отметив, что В. В. Худолей (1992, 1993) и некоторые другие авторы совершенно не дифференцируют эти понятия, для иллюстрации их принципиального различия, очевидного, с его точки зрения, даже при самом поверхностном эволюционном анализе, приводит данные об опухолях у грызунов, которые являются наиболее изученной в онкологическом отношении группой животных. Поскольку они относятся к одному и тому же классу млекопитающих и уровень дивергентного развития можно считать одинаковым, в полном согласии с вышесказанным положением у этих животных должен наблюдаться идентичный спектр поражаемых тканей и, следовательно, гистогенетических форм новообразований. В то же время частоты бластом отдельных гистологических типов у разных видов грызунов варьируют в очень значительной степени, т. е. дивергентное положение животных не оказывает влияния на относительную частоту бластом определенных гистогенетических типов.

Анализируя данные литературы, в том числе обобщенные в работе В. В. Худолея (1993) и показывающие соотношение между источниками образования бластом основных типов животных, В. Н. Манских (2004) делает ряд собственных выводов, в частности указывает на очевидное преобладание опухолей эпителиального (и в первую очередь, по-видимому, эпидермального) происхождения почти во всех крупных таксономических группах. Это обстоятельство, по его мнению, объясняется тем, что будучи «погранич-

ными тканями», эпителии подвергаются наибольшему воздействию экзогенных канцерогенных факторов. Занимаемое соединительной тканью второе место по поражаемости новообразованиями почти во всех крупных систематических группах он связывает с тем, что ткани этого типа образуют вместе с эпителиями единую в гистофизиологическом смысле систему, эволюционное развитие которой, согласно принципу гистогенетических корреляций происходит как единое целое. Поэтому влияния внешней среды, воздействующие на эпителиальные ткани, неизбежно сказываются и на связанных с ними функционально соединительных тканях (Манских, 2004). Подробно рассмотрев эту проблему, он приходит к выводу, что тканевые различия в эволюционном ряду являются весьма существенной стороной эволюции опухолевого роста, причем степень участия той или иной ткани в процессах онкогенеза у данных организмов зависит прежде всего от ее физиологической и морфогенетической лабильности, а также от величины влияния на нее разнообразных экзогенных и эндогенных бластомогенных факторов, т. е. главным образом от ее связью с внешней средой. Последнее обстоятельство в свою очередь зависит от экологических особенностей данной группы животных.

Принципиально важным является то обстоятельство, что животные разных типов, классов и видов проявляют отчетливую чувствительность к разнообразным канцерогенным агентам — химическим, вирусным, радиационным, гормональным. П. А. Боговский и С. П. Боговский (Bogovsky, Bogovskiy, 1981) представили сводку видов животных, чувствительных к канцерогенному действию нитрозосоединений. Оказалось, что общее количество видов, у которых нитрозосоединения индуцируют рак, составляют 39. Эти виды относятся к 36 родам, 25 семействам, 17 отрядам и 5 классам. Авторы полагают маловероятным, чтобы человек мог быть исключением в животном мире и был бы резистентным к канцерогенному действию нитрозосоединений. Следует подчеркнуть, что онкогены, которым придается ключевая роль в малигнизации клеток, весьма близки по своей структуре у человека, других млекопитающих и животных других типов, даже беспозвоночных (Имянитов, Хансон, 2007).

Таким образом, признавая, что все представители животного мира чувствительны к канцерогенным факторам, следует согласиться с тем, что лишь при сравнении самых крупных таксономических групп можно предполагать наличие положительной корреляции между продолжительностью жизни и частотой развития опухолей, что, безусловно, еще нуждается в уточнении. Однако уже начиная с классов, нет достаточных оснований для утверждения, что большей продолжительности жизни соответствует увеличение риска развития опухолей. Кумулятивная частота спонтанных опухолей у мыши, живущей 2 года, крысы, живущей 3.5 года, хомячка, живущего 4.5 года и человека, живущего 70 лет, одинакова и составляет примерно 30—35 % (Storer, 1966; Анисимов, 1976; Pour et al., 1979; Dix et al., 1980; Anisimov, 2003).

По-видимому, неправомерно прямое количественное сопоставление данных по спонтанному и индуцированному канцерогенезу у животных

разных видов. Как справедливо отметили В. С. Турусов и Ю. Д. Парфенов (1986), отличия в чувствительности к канцерогенным агентам между человеком и животными будут проявляться по-разному в отношении разных агентов. Имеются данные об обратной корреляции между видовой продолжительностью жизни и способностью фибробластов активировать проканцерогены в мутагенные формы и связывать их (Anisimov, 1987). В надпочечниках человека отсутствует гидроксилаза ароматических углеводов, тогда как в ткани надпочечников крысы и морской свинки активность этого фермента весьма высока. В культуре клеток печени мышей бенз(а)пирен метаболизировался с большей скоростью, чем в культуре клеток печени человека (Belitsky, Budunova, 1983). Степень вызванного нитрозосоединениями метилирования ДНК лимфоцитов человека *in vitro* составила лишь 70 % таковой лимфоцитов мыши (Harris et al., 1992). Эти данные могли бы помочь в объяснении более высокой чувствительности тканей грызунов к действию полициклических ароматических углеводов (ПАУ) и нитрозосоединений по сравнению с таковой у человека. Однако имеются наблюдения другого рода. Используя в качестве тест-системы трахеобронхиальные эксплантаты и эксплантаты эпителия мочевого пузыря человека, обезьяны, собаки, хомячка и крысы, F. Daniel и соавт. (1983) показали, что ткани человека наиболее активно метаболизируют бенз(а)пирен и проявляют наивысшее ковалентное связывание канцерогенных аддуктов с ДНК. Аналогичные данные получили в трахеобронхиальной культуре и другие авторы (см. Anisimov, 2004). По-видимому, имеют значение не только видовые, но и тканевые особенности метаболизма канцерогенов.

Одной из причин видовых различий в чувствительности организма к повреждающим ДНК воздействиям, в том числе и канцерогенным, а следовательно и различий в продолжительности жизни, считают видовые различия в эффективности репарации ДНК. R. Hart и R. Setlow (1974) сравнили способность фибробластов 7 видов животных восстанавливать структуру ДНК после облучения УФ светом и отметили положительную корреляцию между продолжительностью жизни вида и скоростью репарации ДНК, поврежденной УФ-облучением. Такую же зависимость для 21 вида животных описали A. Francis и соавт. (1981), хотя у некоторых видов были обнаружены отклонения от общей закономерности. Следует отметить, что H. Kato и соавт. (1980) не обнаружили никакой корреляции между продолжительностью жизни вида и эксцизионной репарацией ДНК при исследовании образцов тканей от 34 видов млекопитающих. Отрицательные результаты получены также при оценке корреляции между продолжительностью жизни и репарацией ДНК, индуцированной УФ-облучением, у холоднокровных организмов (Woodhead et al., 1980). Среди возможных причин этих противоречий некоторые авторы (Francis et al., 1981; Maslansky, Williams, 1985) указывают на некоторые методические различия, в частности в дозе и в размерах поврежденной области в тканях животных различных видов при УФ-облучении. Наблюдаемые расхождения могут быть частично объяснены и подбором экспериментальных животных.

В упомянутых работах оценивался лишь один вид эксцизионной репарации, индуцированной УФ-облучением, и не оценивались другие виды репарации, индуцированные другими видами агентов, в частности ионизирующей радиацией или химическими веществами. R. Setlow и соавт. (1983) сравнивали способность хондроцитов суставов человека и кроликов репарировать ДНК, поврежденную УФ-светом или рентгеновскими лучами. Оказалось, что скорость репарации (оцененная по удалению пиримидиновых димеров и разрывов одиночной цепи) у человека была в 2.5 раза большей, чем у кроликов. Однако при сравнении двух видов грызунов — долгоживущего *Peromyscus leucopus* и короткоживущих мышей *Mus musculus* — не было выявлено различий в репарации одиночных разрывов ДНК фибробластов, подвергшихся воздействию гамма-облучения (Hart et al., 1979). Не было найдено различий и в точности репарации ДНК у этих двух видов животных (Fry et al., 1981).

В главе 4 уже обсуждались данные о видовых различиях в специфической репарации ДНК, поврежденной алкилирующими агентами, свидетельствующие о меньшей чувствительности человека к канцерогенному действию нитрозосоединений по сравнению с грызунами, а также данные о существовании положительной корреляции между продолжительностью жизни вида и активностью фермента супероксиддисмутазы в мозге и соответственно об обратной корреляции между скоростью аутоокисления и количеством перекисляемого субстрата и максимальным потенциалом жизни вида (Likhachev, 1990). Кроме того, содержание в мозге и сыворотке крови каротиноидов, обладающих, как известно, антиканцерогенными свойствами, существенно коррелирует с максимальной продолжительностью жизни млекопитающих (Cutler, 1979).

Оценивая данные, представленные в этом разделе, можно заключить, что у долгоживущих видов механизмы, защищающие генетический аппарат клетки от повреждений, по-видимому, более совершенны, чем у короткоживущих видов, что не дает оснований для вывода о наличии положительной корреляции между частотой спонтанных опухолей и продолжительностью жизни вида.

### **11.2.2. Различия в продолжительности жизни разных линий животных одного вида и рак**

У мышей различных линий с короткой и большей продолжительностью жизни также не удастся выявить сколько-нибудь существенной положительной корреляции этого показателя с частотой спонтанных опухолей (Storger, 1966; Smith et al., 1973; Anisimov, 1987) (табл. 11.3). Частота как всех спонтанных опухолей, так и новообразований отдельных локализаций определяется скорее генетическими особенностями и полом, чем продолжительностью жизни. Хорошо известны коротко- и долгоживущие линии мышей с низкой частотой спонтанных опухолей и линии мышей, различающиеся по

Таблица 11.3

Сведения о продолжительности жизни  
и частоте спонтанных опухолей у мышей различных линий  
(Storer, 1966; Anisimov, 1987, 2003)

Линия	Самцы		Самки	
	Средняя продолжительность жизни, недели	Частота опухолей, %	Средняя продолжительность жизни, недели	Частота опухолей, %
C57BL/10	118	33	99	31
219	117	7	104	21
C3H	113	28	70	67
CBA	107	19	91	55
C3H.K.	104	44	—	—
DBA/2J	101	18	102	37
C57BR/odJ	100	25	99	34
129/J	97	12	93	20
C57BL/6J	96	7	99	14
RF/J	93	49	65	43
DBA/2	82	15	101	49
BALB/c	77	0	82	29
CBA/J	75	72	75	87
A/J	70	13	84	30
DBA/1J	62	2	107	22
ST/bJ	62	2	73	8
BDP/J	60	5	67	24
PL/J	55	0	64	71
C58/J	53	73	50	88
AKR/J	46	81	39	92

долголетию, но имеющие одинаково высокую (до 80—100 %) частоту спонтанных опухолей (Staats, 1980). P. Pour и соавт. (1979), исследовавшие частоту спонтанных опухолей у хомячков трех линий, отличающихся по продолжительности жизни, показали, что генетические факторы значительно более ответственны за различия в частоте, локализации и типе спонтанных опухолей, чем продолжительность жизни в популяции. Аналогичный вывод можно сделать и на основании анализа данных о частоте спонтанных опухолей у крыс различных линий и разводов (Анисимов, 1976; Anisimov, 1987). Среди причин, определяющих различия в частоте спонтанных опухолей и различия в чувствительности животных разных линий к действию канцерогенных агентов, ведущую роль, по-видимому, играет генетическая предрасположенность. Показано, что у долгоживущих линий мышей наблюдается более медленное увеличение с возрастом частоты хромосомных aberrаций в печени, чем у короткоживущих (Crowley, Curtis, 1963). I. Colli-

ег и соавт. (1982) не обнаружили существенных различий в эффективности репарации ДНК, поврежденной  $\gamma$ -облучением у коротко- и долгоживущих мышей линии C57BL/10, различавшихся лишь по локусу H-2. Пять линий мышей (C57BL, CBA, RFM, Ba1b/c, BW) не различались ни по величине способности их тканей алкилироваться при воздействии N-нитрозометилмочевины, ни по скорости элиминации O<sup>6</sup>-метилгуанина из ДНК, несмотря на существенные различия в их линейной чувствительности к этому канцерогену (Harris et al., 1981). Как предполагают авторы, у мышей различных линий с разной чувствительностью к канцерогенам может иметь место клеточное содержание провирусной ДНК в геноме. Этот вопрос, однако, требует уточнения.

Таким образом, представленные в этом разделе данные свидетельствуют об отсутствии положительной корреляции между частотой спонтанных опухолей и продолжительностью жизни животных отдельных линий или разводов одного вида.

### 11.2.3. Продолжительность жизни популяции и рак

Данные, представленные выше, убедительно свидетельствуют о том, что частота спонтанных новообразований увеличивается с возрастом как у человека, так и у животных многих видов. В связи с этим логично предположить, что в популяциях животных с большей продолжительностью жизни будет выше и частота спонтанных опухолей. Так ли это на самом деле? Для ответа на этот вопрос необходимо проанализировать две группы фактов. Во-первых, следует оценить степень корреляции между средней продолжительностью жизни в популяции и частотой в ней спонтанных опухолей. Во-вторых, учитывая данные об изменении средней продолжительности жизни человека в историческом аспекте, можно попытаться оценить значение этого фактора в заболеваемости раком.

Рассмотрим первую группу фактов. Данные о кумулятивной частоте злокачественных опухолей и средней продолжительности жизни мужчин и женщин в экономически развитых странах с примерно одинаковым уровнем жизни и диетическими привычками (Anisimov, 1987) свидетельствуют о том, что нет никакой корреляции между частотой спонтанных злокачественных опухолей и средней продолжительностью жизни в этих странах. Прямое сравнение аналогичных данных для стран с разным экономическим уровнем и более различающихся по продолжительности жизни населения будет, на наш взгляд, неправомерным, так как в этих случаях существенное влияние на заболеваемость раком могут оказывать такие факторы, как различия в потреблении жира, овощей и витаминов (Doll, Peto, 1981), тогда как различия в продолжительности жизни могут определяться уровнем медицинского обслуживания и другими социально-экономическими факторами (Гаврилов, Гаврилова, 1986).

Выше уже упоминалось об имеющихся в литературе сведениях о существенных колебаниях частоты спонтанных опухолей в отдельных популя-

циях животных одной линии или разводки, содержащихся в стандартных условиях и даже в одном виварии. Некоторые возможные причины указанных вариаций обсуждались выше. Здесь мы обсудим вопрос о возможных колебаниях средней продолжительности жизни. Т. Takeda и соавт. (1981) представили данные о возрастной патологии в 8 сериях мышей линии AKR, различавшихся по темпу старения. В 5 популяциях наблюдались признаки ускоренного старения — раннее поседение и облысение, более раннее появление катаракты, лордокифозов и амилоидоза, чем в трех других. Частота же опухолей тимуса и новообразований других локализаций во всех группах существенно не различалась. Сопоставление данных о средней продолжительности жизни и частоте спонтанных опухолей в нескольких отдельных популяциях сирийских золотистых хомячков, неинбредных крыс разводки питомника «Рапполово» РАМН или инбредных крыс линии F344 не выявило положительной корреляции между этими параметрами (Anisimov, 1987).

Рассмотрим данные о динамике продолжительности жизни и частоты новообразований. Безусловно, наблюдаемое повсеместно постарение населения, увеличение доли лиц пожилого возраста в структуре населения разных стран являются одной из важных причин увеличения заболеваемости злокачественными новообразованиями. Вместе с тем при сравнении изменений показателей продолжительности жизни и частоты злокачественных опухолей за 10-летний период в странах с примерно одинаковым уровнем жизни не было обнаружено положительной корреляции между этими параметрами ни у мужчин, ни у женщин (Anisimov, 1987) Анализ этих данных затруднен, в частности, когортным эффектом. Однако сопоставление заболеваемости раком в сравнимых возрастных группах также свидетельствует об увеличении заболеваемости раком от десятилетия к десятилетию в большинстве стран (Напалков, 2004; Anisimov et al., 2005). Имеются примеры увеличения риска рака в последовательных поколениях лабораторных крыс и мышей (Turusov et al., 1973; Eiben et al., 2001).

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют об отсутствии положительной корреляции между средней продолжительностью жизни и частотой спонтанных опухолей. Этот вывод, казалось бы, противоречит тому факту, что частота опухолей пропорциональна показателю степени возраста. Однако взглянем на рис. 11.1. Видно, что для трех популяций с различной скоростью (темпом) старения время 50 % выживаемости одинаково. Наклон кривой выживаемости  $\alpha$  согласно уравнению Гомпертца:

$$R = R_0 \cdot e^{\alpha t}, \quad (1)$$

где  $R$  — уровень смертности,  $t$  — возраст,  $R_0 = R$  при  $t = 0$ ,  $\alpha$  — константа. В популяции, в которой условия жизни не изменяются со временем, этот параметр характеризует скорость старения. Очевидно, что параметр  $\alpha$  различен для каждой из трех представленных на рис. 11.1 условных групп животных.

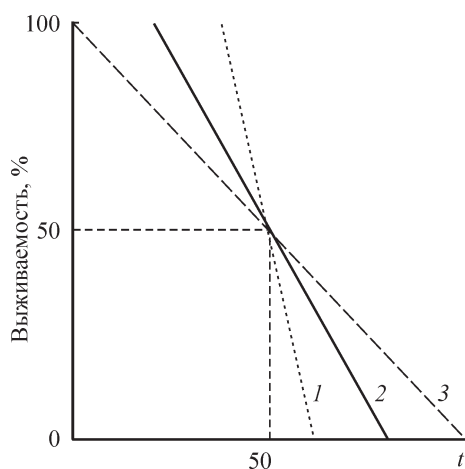


Рис. 11.1. Взаимоотношения между выживаемостью и скоростью старения популяции.

Учитывая, что зависимость между частотой развития большинства новообразований и возрастом также носит экспоненциальный характер, мы рассчитали величину коэффициентов корреляции между параметрами, характеризующими процесс старения и процесс развития опухолей в 10 группах интактных крыс, содержащихся в одинаковых условиях (Anisimov, 1987). Для каждой группы составляли таблицы выживаемости, рассчитывали уровень смертности  $R$ , среднюю продолжительность жизни и коэффициент  $m$ . Актуриальным методом рассчитывали кумулятивную частоту опухолей в каждой группе к возрасту 1000 дней и в соответствии с уравнением:

$$Q = Q_0 \cdot e^{mt}, \quad (2)$$

где  $Q$  — кумулятивная частота опухолей,  $t$  — возраст,  $Q_0 = Q$  при  $t = 0$ ,  $m$  — константа, рассчитывали величину этой константы. Наши расчеты выявили положительную корреляцию между скоростью старения  $\alpha$  и частотой опухолей  $Q$  ( $\rho = 0.70$ ,  $p < 0.05$ ) и константой  $m$  ( $\rho = 0.77$ ,  $p < 0.05$ ). По-видимому, константу  $m$  можно рассматривать как показатель скорости возникновения опухолей в популяции. Итак, наши данные позволяют сделать вывод о существовании прямой зависимости частоты и скорости возникновения новообразований от скорости старения популяции.

Таким образом, представленные наблюдения свидетельствуют об отсутствии положительной корреляции между частотой спонтанных опухолей и продолжительностью жизни: 1) вида; 2) отдельных линий или разводов животных одного вида; 3) в отдельных популяциях животных одной линии или разводки. Этот вывод противоречит представлениям о ведущей роли независимой от влияния старения *per se* суммации событий, приводящих к злокачественной трансформации, в возрастном увеличении частоты опухолей и позволяет предполагать, что в этом процессе имеют значение не толь-



ко случайные повреждения, вызываемые эндогенными или экзогенными факторами, но и закономерно развивающиеся в организме в процессе естественного старения изменения, модифицирующие чувствительность тканей-мишеней к инициирующему и промотирующему действию канцерогенов.

### **11.3. ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТАРЕНИЯ И КАНЦЕРОГЕНЕЗА: МЫШЬ ПРОТИВ ЧЕЛОВЕКА?**

Лабораторные мыши представляют собой удобную и мощную экспериментальную систему для понимания патогенеза рака и старения у человека. Действительно, многие наши современные представления о процессе старения и развития опухолей у человека находятся под сильным влиянием результатов, полученных на мышинных моделях (Rangarajan, Weinberg, 2003; Анисимов, 2003; Anisimov et al., 2005). Широкое использование мышинных моделей заболеваний человека, особенно в последние годы, обусловлено прежде всего тем, что лабораторная мышь, имеющая в принципе такое же строение органов, системную патологию, как у человека, и близкий к нему геном, представляет собой удобный и сравнительно дешевый объект для исследований. На мышах часто легко воспроизводятся воздействия, модифицирующие геном, в частности получают мышей со сверхэкспрессией какого-либо онкогена, либо с инактивированным геном-онкосупрессором. С помощью таких манипуляций удается исследовать многие стороны старения и патогенеза рака (см. главу 12). Однако насколько точно эти мышинные модели отражают сущность происходящих событий у человека? Накопилось достаточно много данных как о существенных параллелях, так и о различиях как в процессе старения, так и в канцерогенезе у мыши и человека (Rangarajan, Weinberg, 2003; Anisimov et al., 2005).

Человек имеет массу тела более чем в 2500 раз превышающую таковую у мыши (70—80 кг и 25—30 г соответственно) и состоит из пропорционально большего числа клеток. Человек живет в среднем в 30—50 раз дольше мыши. В течение жизни клетки человека подвергаются примерно в  $10^5$  раз большему числу делений ( $10^{16}$  митозов у человека против  $10^{11}$  митозов у мыши). Поскольку риск генетических повреждений, включая образование мутантных аллелей, которые приводят к раку, увеличивается пропорционально числу клеточных делений, можно было бы предположить, что у человека частота развития рака должна быть существенно большей, чем у мыши. Однако эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что риск развития опухоли за всю жизнь для обоих видов примерно одинаков. Около 30 % мышей к концу их 2—3-летней жизни имеют опухоли, и около 30 % людей заболевают раком в течение их жизни (Anisimov, 1983, 1987; Ames et al., 1983) (рис. 11.2). Хотя частота рака увеличивается с возрастом у обоих видов, очевидно, что в 3 года у 30 % людей рак не разовьется.

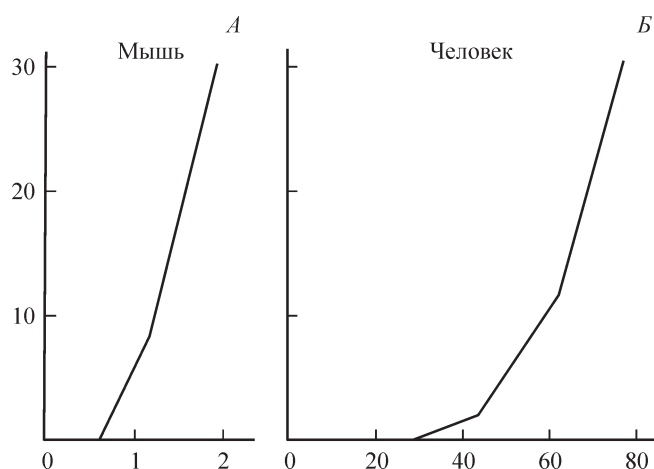


Рис. 11.2. Динамика возрастного увеличения частоты опухолей у мыши (А) и человека (Б).

По оси абсцисс — возраст, годы; по оси ординат — риск возникновения рака, %.

Итак, существенное уменьшение скорости возрастного увеличения частоты рака сопровождается существенным увеличением продолжительности жизни, наблюдавшееся в течение последних 80 миллионов лет эволюции млекопитающих, приведшей к возникновению сначала приматов, а затем и человека. Наблюдающееся снижение подверженности раку сопровождалось развитием ряда определенных противоопухолевых механизмов, многие из которых свойственны клеткам человека (Hanahan, Weinberg, 2000; Rangarajan, Weinberg, 2003).

Различия в подверженности мыши и человека возникновению новообразований необходимо рассматривать как на уровне целого организма, так и на уровне отдельных органов и составляющих их клеток. Одним из факторов, играющим важную роль на уровне целого организма, является уровень основного обмена, который у мыши в 7 раз выше, чем у человека (Ames et al., 1993), что существенно может влиять на уровень АФК и мутагенов, возникающих как побочные продукты нормального окислительного метаболизма. Мыши экскретируют в 18 раз больше продуктов распада ДНК, чем человек, при расчете на кг веса (Ames et al., 1993; Adelman et al., 1988). Поскольку эти свободные радикалы могут быть ответственны за множество повреждений ДНК и накопление мутаций в клетках млекопитающих, это увеличенное окисление может указывать на значительно более высокую степень кумулятивного повреждения ДНК на клетку в единицу времени.

На органном уровне хорошо известны видовые различия в метаболизме канцерогенов. Например, установлена обратная зависимость между продолжительностью жизни вида и величиной связывания ДМБА с ДНК, что отражает различную величину метаболизма проканцерогена ДМБА в активные мутагенные эпоксидные дериваты. В культуре фибробластов грызунов ДНК очень активно связывает активные дериваты ДМБА, тогда как фибробласты

Таблица 11.4

Наиболее частые опухоли, развивающиеся у человека и лабораторных животных (Anisimov et al., 2005)

Опухоль	Мышь	Крыса	Собака	Человек
Рак молочной железы	+	+	+	+
Рак легкого	—	—	—	+
Предстательная железа	—	+	+	+
Толстая кишка	—	—	—	+
Кожа	—	—	+	+
Желудок	—	—	—	+
Печень	—	—	—	+
Рак эндометрия	—	+	+	+
Лейкоз/лимфома	+	—	+	+
Щитовидная железа	—	+	+	+
Мочевой пузырь	—	—	+	+

человека не столь эффективно (Schwartz, Moore, 1977). Это лишь один пример, иллюстрирующий тот факт, что скорость метаболического превращения проканцерогенов в канцерогены может значительно различаться между двумя видами животных. В то же время кинетика детоксикации канцерогенов может также существенно различаться.

Спектр ассоциированных с возрастом новообразований у мыши и человека также весьма различен (DePinho, 2000) (табл. 11.4). Для лабораторных мышей многих линий характерно развитие главным образом мезенхимальных опухолей, таких как лимфомы и саркомы, тогда как большинство опухолей человека представлено эпителиальными раками. Причины таких видовых различий в тканеспецифичности поражаемости неоплазиями малоизвестны (Rangarajan, Weinberg, 2003). Однако известно большое число линий мышей, у которых подавляющее число спонтанных опухолей имеет эпителиальную природу (Anisimov, 1987, 2003).

На один из возможных механизмов подобных межвидовых различий в развитии неоплазий могут указывать результаты работы на дефицитных по теломеразе мышах (Blasco et al., 1997). У мышей в пятом или шестом поколении в клетках наблюдается существенное укорочение теломера и слияние хромосом (Lee et al., 1998). По неизвестной причине спектр развивающихся опухолей у таких мышей, полученных на основе мутантной линии *Trp53*, меняется и вместо типичных для мышей этой линии мезенхимальных опухолей развиваются преимущественно эпителиальные опухоли, что типично для человека (Artandi et al., 2000). Хотя механизм столь глубокого сдвига в развитии опухолей в тканях-мишенях (с мезенхимальных к эпителиальным) остается неясным, понятно, что наблюдаемые различия в тканевой специфичности развивающихся опухолей определяются молекулярными процессами, которые свойственны нормальным мышинным и человеческим клеткам (Rangarajan, Weinberg, 2003).

Существенные различия цитогенетического профиля мыши и человека представляют другое ключевое отличие. Большинство эпителиальных карцином человека имеют весьма ненормальный кариотип, характеризующийся изменением как числа хромосом, так и множественными реципрокными транслокациями (МРТ), что редко встречается в опухолях мышей. Причина этих различий остается также неясной. Однако опухоли, развившиеся в поздних генерациях дефицитных по теломеразе мышей, полученных на основе мутантных мышей *Trp53*, характеризуются появлением нескольких МРТ (Artandi et al., 2000), указывающих на то, что дисфункция теломер может приводить к возникновению МРТ в клетках рака человека.

Несмотря на практически полное сходство в органах и системах между мышью и человеком, имеются тонкие различия в физиологии и строении тканей, которые могут изменять существенно фенотип опухоли. Например, люди, наследующие один дефектный аллель супрессорного гена полипоза толстой кишки (*APC*), подвержены высокому риску развития полипоза толстой кишки, поскольку у них в клетках толстой кишки часто отсутствует дикий тип аллеля. Возникшие полипы прогрессируют в карциномы и в конечном счете становятся инвазивными. Однако у *Apc*-гетерозиготных мышей развиваются полипы тонкой кишки, и эти полипы не малигнизируются (Heyer et al., 1999).

Таким образом, едва различимые различия в физиологических и биологических свойствах, которые присущи клеткам мыши и человека, могут вызывать глубокие изменения их ответа на канцерогенное воздействие, которое в свою очередь может сказываться на возникновении неоплазии (Rangarajan, Weinberg, 2003).

Принципиальное, давно замеченное различие между клетками мыши и человека состоит в наблюдении, что растущие в культуре мышинные фибробласты с высокой частотой подвергаются иммортализации, тогда как фибробласты человека к этому не способны. Вместо того чтобы становиться иммортализованными, фибробласты человека после определенного числа делений *in vitro* обязательно переходят в состояние репликативного старения (Hayflick, Morhead, 1961). Они могут находиться в этом состоянии, сохраняя жизнеспособность, довольно продолжительное время. Однако в присутствии вирусных онкогенов, например SV40LT, человеческие клетки подвергаются репликативному старению, но только позднее (через 10—20 удвоений популяции) переходят в состояние, называемое «кризис», который характеризуется массивной гибелью клеток. Иммортализованные клоны клеток могут спонтанно и с низкой частотой (примерно  $10^{-7}$  на деление) подвергаться кризису (Shay et al., 1991). Таким образом, репликативное старение и кризис представляют собой два барьера, которые должны преодолеть клетки человека на пути к иммортализации. Приобретение иммортализации является существенным свойством раковой клетки. Эти различия в иммортализации *in vitro* могут быть сигналом таких же различий, которые наблюдаются при канцерогенезе *in vivo* между этими двумя видами (Rangarajan, Weinberg, 2003).

Относительная легкость, с которой мышинные клетки подвергаются иммортализации в культуре, может объясняться частично различием в биологии теломер между этими двумя видами. Теломеры защищают концы хромосом от деградации, обменов и слияний с концами других хромосом. В культурах клеток человека хромосомы укорачиваются на 50—100 пар оснований за каждое деление клеток. Предполагают, что такое укорочение теломер в клетках человека, приводящее к потере защиты концов хромосомной ДНК, является пусковым механизмом клеточного старения и после него — кризиса, тем самым ограничивая репликативный потенциал клеток человека (Harley et al., 1994).

Теломераза — фермент, который поддерживает и удлиняет теломерные концы, функционально активна в большинстве клеток мышцы, тогда как многие клетки взрослого человека не содержат определяемой активности этого фермента (Kim, 2007). Более того, теломеры мышцы существенно длиннее теломер человека (40—60 тыс. пар оснований у мыши и 10 тыс. пар оснований у человека), что, возможно, отражает постоянное действие теломеры в постэмбриональных соматических мышечных клетках. В соответствии с теломерной гипотезой восстановление теломеразной активности способствует предотвращению клеточного старения в некоторых типах клеток человека, таких как фибробласты, и способно предотвращать наступление кризиса, тем самым способствуя иммортализации (Vaziri, Benchimol, 1998). Таким образом, благодаря своим более длинным в норме теломерам и присущей им экспрессии теломеразы мышечные клетки легко подвергаются спонтанной иммортализации, тогда как клетки человека должны активно приобретать этот механизм (обычно дерепрессируя экспрессию теломеразы) для предотвращения укорочения теломеры и избегания старения и кризиса.

Когда мышечные фибробласты дикого типа (MEFs) растут в условиях стандартной культуры, они проявляют фенотип, подобный старению, запускаемый окислительным стрессом (Parrinello et al., 2003). Это вызываемое окислительным стрессом старение фенотипически сходно с репликативным старением культивируемых фибробластов человека. Введение онкогена, такого как *RAS*, также запускает подобный старению ответ как в мышечных, так и в человеческих первичных культурах клеток (Serrano et al., 1997). Несмотря на то что эти формы старения вызваны различными физиологическими сигналами, они используют одинаковые системы клеточного контроля, вовлекающие p53- и RB-опосредованные механизмы для проявления этого ответа. Однако относительный вклад этих механизмов в старение отличается в клетках мыши и человека (Rangarajan, Weinberg, 2003).

Опосредуемый p53 механизм представляется доминирующим в старении мышечных фибробластов, тогда как в фибробластах человека ведущую роль играет механизм, опосредованный геном ретинобластомы (RB). В ответ на старение, индуцируемое культивированием или *RAS*, в мышечных фибробластах дикого типа увеличивается уровень Arf и p53 (Serrano et al., 1997; Zindy et al., 1998). В соответствии с этим фибробласты от нокаутных

по *Arf* или Trp53 мышей избегают старения (Kamijo et al., 1997; Harvey et al., 1995). Однако нокаутные по *Cdkn1a* мышинные эмбриональные фибробласты не способны избегать старения, что свидетельствует о том, что p53 воздействует на иную мишень, нежели Waf1 (продукт *Cdkn1a*), индуцируя старение мышинных клеток (Pantoja, Serrano, 1999). В старых мышинных эмбриональных фибробластах повышен также уровень Ink4a. Однако эмбриональные фибробласты от нокаутных по *Ink4a* или *Rb* мышей подвержены старению, индуцируемому как культивированием, так и введением *RAS* (Sharpless et al., 2004). Взятые вместе, эти наблюдения свидетельствуют о том, что система Arf—p53 является основным регулирующим механизмом старения в мышинных клетках. Интересно, что дважды нокаутные *Rb/p130* и нокаутные по трем генам *Rb/p107/p130* мышинные эмбриональные фибробласты избегают старения (Peerep et al., 2001), свидетельствуя о том, что опосредованный белком Rb механизм может также вызывать клеточное старение у мышей, хотя и в меньшей степени, чем это имеет место в клетках человека.

Можно привести еще примеры различий в молекулярных механизмах злокачественной трансформации клеток мыши и человека *in vitro* (Rangarajan, Weinberg, 2003). Процесс опухолевой прогрессии может определяться природой и количеством поврежденных генов, которые представлены в опухолевой клетке. Безусловно, центральная роль многих генетических повреждений подтверждена в реализации многостадийного процесса опухолевой прогрессии, и она определяется механизмами, перечисленными выше. Основываясь на наблюдениях, что кумулятивный риск рака увеличивается примерно пропорционально четвертой степени возраста как у грызунов, так и у человека, среднее число стадий в канцерогенезе одинаково у этих двух видов (Ames et al., 1993; Holliday, 1996). Однако, если трансформация мышинных клеток требует меньшего числа генетических и/или эпигенетических повреждений клеточного генома (как описано выше), многостадийная опухолевая прогрессия у мышей вовлекает намного меньше изменений и значительно проще, чем сравнимые процессы у человека. Будучи различными, эти расхождения в организации клеточных автономных регуляторных путей должны диктовать существенно различные процессы опухолевой прогрессии у этих двух видов. Более того, существенно большее количество путей, которые требуются для трансформации человеческой клетки, означает, что большинство клеточно-автономных противораковых защитных механизмов, которые присутствуют в человеческих клетках, должны возникнуть в течение времени, потребовавшегося для эволюции (Rangarajan, Weinberg, 2003).

Несмотря на эти различия, мышинные модели в высшей степени полезны для понимания различных аспектов патогенеза опухолей человека (Anisimov et al., 2005). Более того, знание различий, которые ассоциированы со специфическими мышинными моделями рака человека, является инструментом улучшения этих моделей, делая их более адекватными патогенезу рака человека. Например, первые генерации трансгенных мышей (в которых он-

когенный трансген широко экспрессирован во всех клетках мышечных тканей с ранних этапов жизни мыши), подтверждают причинную роль специфических генетических повреждений в опухолевом процессе, кооперацию индивидуальных генетических повреждений и многостадийную природу развития опухолей. Однако эти модели не способны точно моделировать инициацию многих спорадических опухолей человека, которые, судя по всему, вовлекают стохастически активированные онкогены в единичной клетке, которая окружена нормальным тканевым микроокружением. Это привело в последнее время к созданию трансгенных мышечей с регулируемым онкогенами, в которых экспрессия трансгена может быть индуцирована тканеспецифичным и времяспецифичным образом, и может наблюдаться стохастически в малой пропорции клеток в ткани-мишени (Anisimov, 2003).

Конвенциональные мышечные нокаутные модели человеческих опухолево-супрессорных генов часто демонстрируют опухолевый спектр, отличный от человеческой патологии (Herzig, Christofori, 2002) (табл. 11.4). Например, у человека потеря Rb половой или соматической клеткой ассоциирована с возникновением ретинобластомы или остеосаркомы, и в более позднем возрасте с мелкоклеточным раком легкого, тогда как у генно-инженерных мышечей с делецией гена *Rb* эти типы опухолей не возникали. Однако дополнительная делеция гена, кодирующего близкий к Rb белок p107, вызывает развитие ретинобластомы у мышечей (Robanus-Maandag et al., 1998). Аналогично мутации в гене *NF2* у человека приводят к развитию шванномы, тогда как у конвенционных нокаутных по *Nf2* мышечей возникают остеосаркомы. Тем не менее, когда конвенционно были инактивированы оба аллеля *Nf2*, наблюдающиеся в шванновских клетках, у этих мышечей развились шванномы, что свидетельствует о том, что понимание видоспецифических различий в опухолевой патобиологии может привести к лучшему воспроизведению заболеваний человека у мышечей (Rangarajan, Weinberg, 2003).

Эксперименты, подобные указанным выше, показывают, что можно надеяться в будущем на изменение зародышевых линий, замещая мышечные генетические элементы их человеческими гомологами, с «гуманизированными» отдельными компонентами клеточных регуляторных систем, и создавать мышечные клетки, которые ближе подходят к биологическому поведению их человеческих аналогов. Новые технологические возможности, в частности применение генетических микрочипов при использовании опухолей мыши и человека, вероятно, позволят получить новую дополнительную полезную информацию для более тщательного ремоделирования мышечного генома, что откроет возможность кодировать экспрессию белков наиболее близким образом к экспрессии их аналогов у человека.

Модели ксенотрансплантации человеческих опухолей иммунотолерантным мышам представляют другой пример модельных систем, которые используются для изучения комплексных патобиологических процессов в канцерогенезе у человека, такие как инвазия и метастазирование, которые не всегда легко мимикрируются генно-инженерными моделями и не могут быть заменены моделями *in vitro*. Однако межвидовые несовпадения в ре-

цепторно-лигандных взаимодействиях между пересаженными опухолевыми клетками человека и окружающей мышечной тканью могут определять неспособность ксенографтов приживаться и расти. В случае клеток карциномы человека гуманизированный мышечный геном с соответствующими человеческими стромаспецифичными генами или гуманизованная мышечная строма с человеческими стромальными клетками могут существенно улучшить ксенографтные мышечные модели рака человека.

Различные улучшения мышечных моделей человеческих неоплазий привели к ожиданию, что мышечные модели используются не только для понимания, как возникает рак у человека, но и способствуют лучшей противоопухолевой терапии. Хотя мы прошли длинный путь, пока первая мышечная модель человеческого рака была создана, много еще должно быть сделано для того, чтобы мы могли реально предсказать поведение опухоли человека по их росту у мышей.

Завершая анализ различий в механизмах развития рака между человеком и мышью, Rangarajan и R. Weinberg (2003) подчеркивают важность уроков, извлеченных из мышечных моделей канцерогенеза. Эти уроки авторы формулируют следующим образом.

- Клонированные кандидатные онкогены, которые трансформируют клетки *in vitro*, могут запускать рак *in vivo* у трансгенных мышей, что свидетельствует об их участии в развитии опухолей человека.

- Делеция предполагаемых человеческих опухолевых супрессорных генов из мышечных половых клеток вызывает возникновение опухолей у этих мышей, что подтверждает роль этих генов как важных агентов в канцерогенезе у человека.

- Мыши, полученные инбридингом мышей со специфическими мутациями в онкогенах и генах-супрессорах, позволяют исследовать, каким образом эти индивидуальные мутации кооперируются механистически в продукции рака в течение многостадийного развития опухоли.

- У старых мышей, дефицитных по теломеразе и гетерозиготных по *Trp53*, имеют место выраженные отличия опухолевого спектра, от обычно наблюдаемого у мышей, т. е. от мезенхимальных опухолей к эпителиальным ракам с не-реципрокными транслокациями, которые свойственны неоплазиям у пожилых людей. Это указывает, что различия в длине теломер и регуляции влияют на опухолевый спектр и цитогенетику у этих двух видов.

- Инактивация онкогенных трансгенов в уже сформировавшихся мышечных опухолях коллапсирует эти опухоли, свидетельствуя о том, что повреждения, которые ответственны за инициацию возникновения опухолей, также существенны для поддержания опухоли.

- Направленная инактивация гена *Nf1* в предшественниках шванновских клеток мышей приводит к нейрофиброматозу, сходному с наблюдаемым у человека, что свидетельствует о возможности участия этих клеток как предшественников в этих гистологически комплексных опухолях.

- Роль стромы в опухолевой прогрессии: мышцы, у которых отсутствуют тучные клетки, не способны к развитию некоторых трансгенно индуциро-



ванных опухолей, что указывает, что воспалительные клетки, которые циркулируют опухолью, могут быть важным фактором в опухолеобразовании. Исследования с  $Id^{+/-}$ ,  $Id3^{-/-}$  мышами показали, что участие предшественников эндотелиальных клеток костного мозга необходимо для опухолевого ангиогенеза.

#### 11.4. ВОЗРАСТНОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ ОПУХОЛЕЙ У ЧЕЛОВЕКА

Многочисленные исследования убедительно свидетельствуют об увеличении с возрастом частоты развития злокачественных новообразований у человека (Напалков, 2004; Dix et al., 1980). Более 80 % всех впервые диагностируемых опухолей приходится на возраст старше 50 лет. По данным Н. П. Напалкова (Napalkov, 1985) 90.7 % всех случаев рака пищевода, 86.3 % случаев рака легких, 84 % рака желудка и 82 % рака кожи выявляется у лиц старше 50 лет. В старших возрастных группах наблюдаются существенные различия в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями. Так, в России, в возрастной группе 50—59 лет у женщин первые три места занимают рак молочной железы, шейки матки и желудка, у мужчин — рак легкого, желудка и кожи. У женщин после 70 лет рак желудка занимает первое место, рак кожи — второе, затем следуют рак молочной железы и шейки матки. У мужчин этой возрастной группы сохраняется прежний порядок локализаций и лишь в возрасте старше 70 лет рак желудка занимает у них первое место. У женщин старше 70 лет так же, как и у мужчин, на первом месте — рак желудка.

Давно было замечено, что увеличение частоты новообразований отдельных локализаций в зависимости от возраста различно. Так, R. Doll (1978) различает 4 типа распределения частоты опухолей по возрасту. К первому типу он относит случаи, когда пик частоты опухолей некоторых локализаций наблюдается в раннем детском возрасте, после чего они встречаются значительно реже. Полагают, что ведущую роль в этих случаях играет то, что в раннем периоде жизни происходит интенсивное деление клеток определенных популяций, генетически предрасположенных к действию канцерогенных агентов. В качестве примеров такого типа можно привести нефробластомы и ретинобластомы. Последние редко встречаются у детей старше 5 лет, что можно объяснить отсутствием чувствительных клеток (делящихся ретинобластов) в более старшем возрасте. При втором типе распределения пик частоты опухолей, например рака легкого, отмечается в среднем или пожилом возрасте (после 40 лет). Третий тип (например, при раке желудка в Европе или Северной Америке) характеризуется быстрым непрерывным подъемом частоты опухолей в период перехода от зрелого возраста к старческому. При четвертом типе (рак молочной железы, тела и шейки матки) наблюдается сходное с третьим типом увеличение частоты опухолей

до 40—50 лет, затем оно не выражено и даже может наблюдаться снижение частоты возникновения опухолей.

Весьма близка к классификации R. Doll другая, предложенная S. Moolgavkar и A. Knudson (1981). Они подразделяют кривые, отражающие возрастную динамику частоты рака, на три основных типа, соответствующих трем основным типам роста тканей организма. Большинство тканей постепенно увеличивается в размерах в течение детства и созревания. Кривые роста таких органов, как легкие и толстая кишка, довольно удовлетворительно описываются экспоненциальным уравнением. После завершения периода роста эпителий этих органов поддерживается на постоянном уровне путем самообновления. Соответственно в таких тканях с возрастом постепенно увеличивается и частота опухолей. На двойной логарифмической шкале зависимость между частотой и возрастом в этих случаях описывается прямой линией, наклон которой, определяемый коэффициентом  $k$ , равен показателю степени возраста. Такого типа зависимость показана для рака желудка и толстой кишки. В этих случаях этот коэффициент равен от 4 до 7, тогда как для рака предстательной железы этот параметр приближается к 11.

Второй тип кривых роста тканей характеризуется слабым развитием до периода созревания и бурным ростом во время него. Он удовлетворительно описывается логистической функцией. Такой тип роста свойственен органам репродуктивной системы. Наиболее ярким примером кривой развития опухолей такого типа является рак молочной железы. В странах Запада с высокой частотой и риском новообразований молочной железы их встречаемость быстро увеличивается к менопаузе, после чего это увеличение менее выражено. В странах Востока с более низким риском, например в Японии, наблюдается постепенное увеличение частоты рака молочной железы к менопаузе, после чего наблюдается ее отчетливое снижение. Однако S. Moolgavkar и A. Knudson (1981) отмечают, что это снижение объясняется когортным эффектом, и после соответствующих коррекций кривые для рака молочной железы в странах Запада и Востока имеют одинаковый вид. Следует отметить, что если возрастное увеличение частоты рака шейки матки безусловно укладывается во II тип распределения, то снижение частоты рака тела матки в той же популяции женщин США после 60 лет не может быть объяснено когортным эффектом. Очевидно, имеют значение особенности возрастной динамики гормональной регуляции отдельных тканей репродуктивной системы.

Третий тип кривых проявляется бурным ростом в раннем возрасте с последующим снижением частоты клеточных делений. К таким тканям можно отнести нервную и кроветворную. Соответственно к третьему типу возрастного распределения относят ретикулобластому и острый лимфолейкоз.

Рассматривая вопрос о возрастном распределении частоты новообразований у человека, D. Dix и соавт. (1980) указывают на три основных проблемы, встающие перед исследователями. Во-первых, на типе распределения могут сказываться такие факторы окружающей среды, как курение или воз-

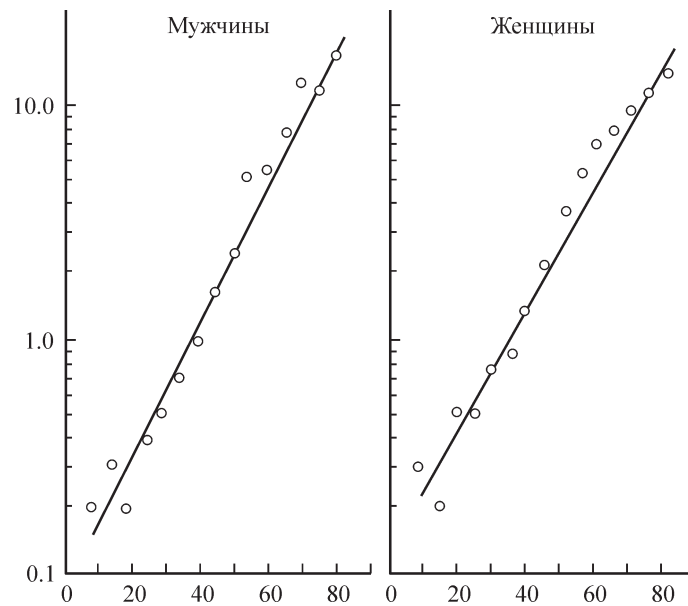


Рис. 11.3. Возрастное увеличение частоты злокачественных новообразований у людей (Dix et al., 1981).

По оси абсцисс — возраст, годы; по оси ординат — частота злокачественных новообразований, логарифмическая шкала.

действие солнечной радиации. Во-вторых, существенное значение имеют различия в возможностях диагностики опухолей разных локализаций. Так, опухоли губы, гортани, кожи и мочевого пузыря обычно выявляют на ранних стадиях заболевания, тогда как диагноз новообразования поджелудочной железы, желудка и легких ставится подчас на поздних стадиях развития опухолевого процесса. Этой точке зрения соответствует замечание J. Ponten (1977), отметившего, что рак предстательной железы у стариков встречается, по-видимому, гораздо чаще, чем регистрируется. И, в-третьих, на характер возрастного распределения могут влиять такие факторы, как пол, раса, географические и социально-экономические факторы.

Для преодоления этих проблем при анализе возрастной динамики распределения частоты злокачественных опухолей авторы воспользовались данными одного из лучших в США канцер-регистров штата Коннектикут и минимизировали все возможные погрешности в оценке частоты опухолей. D. Dix и соавт. (1980) разделили все встречающиеся опухоли (за исключением хорионэпителиомы) на два класса. К первому классу они отнесли все опухоли, имеющие один пик частоты после 50 лет, т. е. подавляющее большинство опухолей человека. Ко второму классу опухолей были отнесены опухоли, возрастное распределение которых характеризуется двумя пиками частоты: одним в возрасте до 35 лет, другим — после 50 лет. К этим опухолям авторы относят лимфолейкоз, новообразования костей, яичек и лим-

фогрануломатоз. Было показано, что скорость увеличения частоты меланомы кожи, опухолей соединительной ткани, щитовидной и слюнной желез, шейки матки и молочной железы замедляется в среднем возрасте, тогда как все другие новообразования, отнесенные к первому классу, имеют примерно одинаковые характеристики зависимости между возрастом и частотой.

При усреднении по всем опухолям первого класса нашли, что частота этих опухолей между 10 и 80-ю годами жизни увеличивается экспоненциально (рис. 11.3) в соответствии с уравнениями:

$$\text{Мужчины: } \log \% \text{ общей частоты} = 0.031 (\text{возраст}) - 1.15.$$

$$\text{Женщины: } \log \% \text{ общей частоты} = 0.027 (\text{возраст}) - 0.897.$$

Следует отметить, что вопрос о возрастной динамике частоты доброкачественных опухолей у человека практически не исследован. Вместе с тем, как справедливо указывает J. Ponten (1977), эта группа новообразований встречается значительно чаще, чем злокачественные опухоли. По данным W. Lever (1967) базально-клеточные папилломы, за исключением редких наследственных случаев, не встречаются до полового созревания, редки до 40 лет, но затем частота их быстро увеличивается. И хотя количественные данные на этот счет отсутствуют, по-видимому, у всех стариков имеют место старческие бородавки.

Таким образом, вне зависимости от того, какой классификации типов распределения частоты опухолей по возрасту придерживаться, очевидно, что имеет место органная, вернее, тканевая специфичность такого распределения. Причины этих различий неизвестны. Однако, на наш взгляд, можно предположить, что, во-первых, чувствительность тех или иных тканей к эндогенным или экзогенным канцерогенным воздействиям неодинакова в различные периоды жизни человека и, во-вторых, возрастные изменения чувствительности к канцерогенам в разных тканях могут протекать с различной скоростью и, возможно, в разных направлениях. Необходимо иметь в виду и данные об особенностях возрастного распределения частоты опухолей, развивающихся в одном органе, но имеющих разный гистогенез. Так, по наблюдениям С. С. Феоктистовой (1976) характер новообразований яичников в различном возрасте принципиально иной. У женщин до 30 лет наиболее часто встречаются так называемые редкие опухоли: герминогенные, мезенхимальные и некоторые другие. На долю эпителиальных карцином в этой возрастной группе приходится лишь 16 %. У больных старше 31 года — 69—80 % опухолей яичников составляют эпителиальные или «мюллеровские» карциномы, а удельный вес мезенхимальных опухолей снижается до 5—8 %.

Согласно данным Международного агентства по изучению рака (МАИР) риск возникновения рака выше у женщин, по сравнению с мужчинами, в период до менопаузы и снижается после нее (IARC, 2003). Кривые возрастного увеличения частоты злокачественных новообразований для мужчин и женщин перекрещиваются примерно в возрасте менопаузы (т. е. в 50—55 лет)

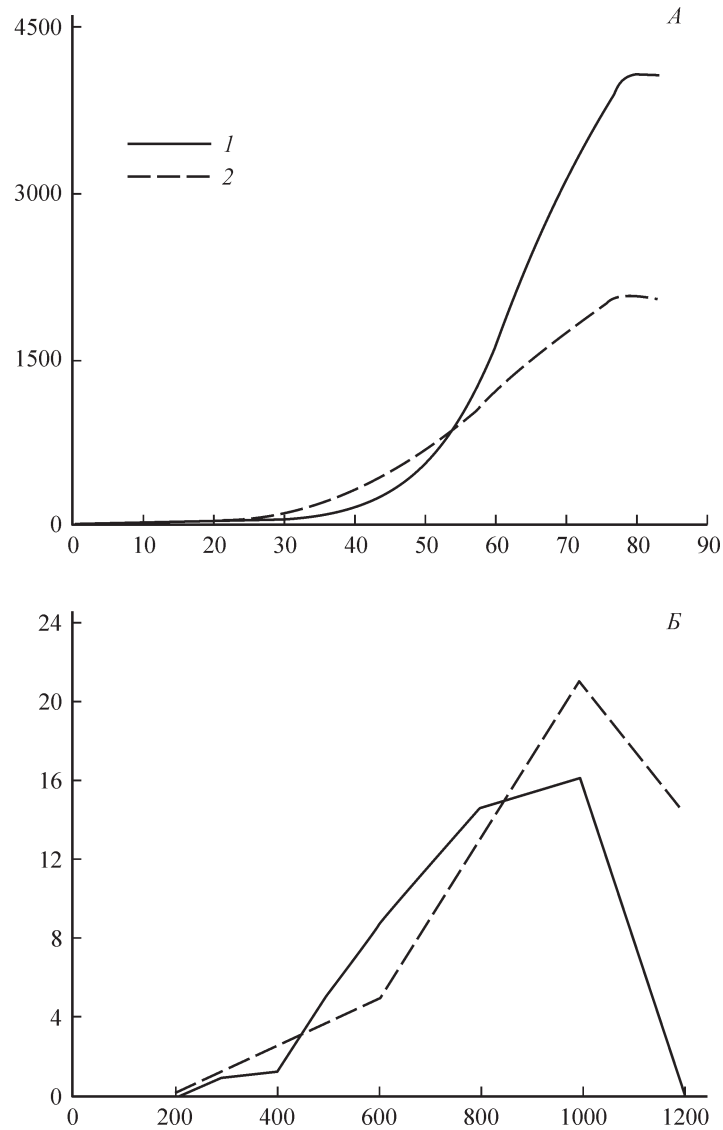


Рис. 11.4. Возрастная динамика частоты развития новообразований. *А*: 1 — у мужчин, 2 — у женщин в США (1988—1992); *Б*: 1 — у самцов, 2 — у самок крыс ЛИО (Anisimov et al., 2005).

(рис. 11.4, *А*). Это половое различие удивительно стабильно в течение многих десятилетий и не зависит от географической локализации популяции (Anisimov et al., 2005). Такой же характер возрастной динамики развития опухолей отмечен нами у самцов и самок крыс (рис. 11.4, *Б*). Перекрест кривых у крыс также наблюдается в период прекращения репродуктивной функции у самок (примерно в возрасте 16—18 мес.).

### 11.5. ВОЗРАСТНОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Описанию спонтанных опухолей у животных различных видов и линий посвящено огромное количество исследований. Хорошо известны высоко- и низкораковые линии мышей и крыс, линии или разводки, характеризующиеся избирательным развитием опухолей какой-либо одной локализации (Анисимов, 1976; Staats, 1980; Ward, 1983, Anisimov, 1987, 2003) (табл. 11.3). Вариации в частоте, локализации и типе выявляемых новообразований крайне велики и определяются как эндогенными (генетическими), так и многими экзогенными факторами (Ward, 1983, Anisimov, 1987).

Даже при стандартных условиях содержания и исследования частота спонтанных опухолей у животных отдельных линий может колебаться в весьма широких пределах. Так, у мышей линии CF-1 частота спонтанных гепатом в 6 последовательных поколениях варьировала от 21 до 39 %, частота аденом легких — от 31 до 61 %, а частота спонтанных новообразований кроветворной системы от 13 до 36 % (Turusov et al., 1973). У мышей линии А в 5 последовательных поколениях частота спонтанных аденом легких колебалась от 8 до 29 % у самок и от 7 до 24 % у самцов. У неинбредных крыс разводки питомника «Рапполово» АМН СССР в 5 последовательных поколениях общая частота спонтанных опухолей колебалась от 16 до 34 % у самцов и от 26 до 55 % у самок (Anisimov, 1987). При этом частота спонтанных опухолей гипофиза в отдельных поколениях различалась в 4 раза, а опухолей молочной железы — более чем в 10 раз. По данным D. Lorke (1981), изучившего частоту спонтанных опухолей у 2000 интактных крыс линии Wistar W70, разделенных на 20 групп (50 самцов и 50 самок в каждой), вариации достигали 6—54 % у самцов и 24—58 % у самок.

Необходимо подчеркнуть, что, несмотря на существенные вариации в частоте спонтанных опухолей даже у животных одной линии, содержащихся в одинаковых условиях, так же, как и у людей, наблюдается увеличение с возрастом частоты новообразований. Для мышей отдельных инбредных линий, характеризующихся избирательным развитием опухолей 1—2 локализаций, хорошо установлен и тип возрастного нарастания их частоты. Так, у самцов AKR, проживших 7—10 месяцев, в 80—90 % случаев развивается лейкоз, быстро приводящий животных к гибели. У мышей линии А частота спонтанных аденом легких достигает 90 % лишь к 18 месяцам жизни. Спонтанные гепатомы примерно с такой же частотой развиваются у самцов линии СЗН к 14 месяцам жизни, а аденокарциномы молочной железы у девственных самок этой же линии к 18 месяцам (Storer, 1966; Staats, 1980). Однако и у мышей с более широким спектром спонтанных опухолей наблюдается увеличение с возрастом их частоты (Anisimov, 1987).

Онкологическая характеристика крыс отличается, как правило, более широким спектром опухолей. В отличие от мышей у крыс, как и у человека, чаще развиваются доброкачественные опухоли. Однако в отличие от чело-

века у крыс отдельных линий или разводов до 80—85 % всех опухолей развивается в эндокринных железах и органах репродуктивной системы. У самок неинбредных крыс нашей разводки большая часть опухолей выявлялась между 801 и 900-м днями жизни, что определяется пиком частоты в этом возрастном интервале опухолей эндокринных желез и опухолей молочной железы. У самцов большая часть всех опухолей была выявлена между 701 и 1000-м днями жизни крыс, тогда как пик частоты опухолей эндокринных желез был между 700 и 800-м днями (Anisimov, 1987).

У крыс разных линий частота всех опухолей и опухолей большинства локализаций увеличивается с возрастом (Anisimov, 1987; Ward, 1983). Изучение распределения по возрасту опухолей отдельных локализаций у наших крыс показало, что характер его в разных органах и тканях неодинаков. Наиболее рано выявлялись злокачественные новообразования гематопэтической системы, прежде всего лейкозы. Развитие опухолей гипофиза, молочной железы и светлоклеточных аденом щитовидной железы характеризовалось пиком частоты в возрасте 701—900 дней, после чего наблюдалось уменьшение относительной частоты их обнаружения. Возникновению новообразований гематопэтической системы и опухолей тиреоидного эпителия щитовидной железы такой характер возрастного распределения был несвойственен.

Ж. Вурек (1978) также отметил, что опухоли различной локализации и гистогенеза имеют пик частоты в разном возрасте. Так, относительная частота опухолей гипофиза у крыс линии BN/Вi, умерших в разном возрасте, была примерно одинаковой. Опухоли шейки матки и влагалища выявлялись у 31 % крыс линии BN/Вi в возрасте 19—24 месяцев и у 14,3 %, проживших 37—54 месяца. Плоскоклеточные цервикагинальные раки у этих крыс обнаруживались в среднем в возрасте 29 месяцев, а лейомиосаркомы шейки матки и влагалища на 4 месяца позже.

Частота спонтанных опухолей увеличивается с возрастом и у животных других видов: амфибий, рыб, хомячков, морских свинок, собак и других домашних животных (Забезинский и др., 1993). Имеются данные об увеличении с возрастом частоты спонтанных новообразований и у беспозвоночных животных (Ponten, 1977). Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о неодинаковом характере возрастного распределения частоты возникновения новообразований в различных органах и новообразований различного гистогенеза в пределах одного органа.

### **11.6. СНИЖЕНИЕ ЧАСТОТЫ СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ В САМЫХ СТАРШИХ ВОЗРАСТАХ**

Установлено, что частота опухолей уменьшается в самых старших возрастных группах у самцов и самок мышей (Pompei et al., 2001). К такому же выводу привели результаты изучения частоты развития опухолей у мышей,

которых содержали на ограниченной по калорийности диете (Lipman et al., 1999). Эти экспериментальные данные соответствуют наблюдениям о снижении частоты рака у столетних людей (Bordin et al., 1999; Miyashi et al., 2000; Pompei, Wilson, 2001). Уменьшение частоты рака в самых старших возрастах может быть объяснено на основе представлений о дифференцированном отборе в гетерогенной популяции (Vaupel, Yashin 1985). При этом предполагается, что более слабые индивидуумы погибают раньше, и отбор изменяет структуру популяции, т. е. распределение таких более уязвимых лиц в ней, что приводит к увеличению доли более выносливых, резистентных индивидуумов с увеличением их возраста в когорте. В результате заболеваемости и смертности среди выживших будут уменьшаться в такой гипотетической популяции с начальной гетерогенностью. Этот пример показывает, что отбор может приводить к уменьшению частоты развития новообразований в старческом возрасте вне зависимости от возрастных изменений индивидуальной чувствительности к раку. С. В. Украинцева и А. И. Яшин (Ukraintseva, Yashin, 2001) полагают, что изменения, развивающиеся в организме при старении, могут не только способствовать возрастному увеличению частоты развития рака, но также и его снижению. Таким образом, наблюдающиеся различия в характере возрастного распределения опухолей различных локализаций позволяют предположить различную возрастную чувствительность разных тканей к канцерогенным факторам.

### **11.7. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К КАНЦЕРОГЕНАМ В РАЗНОМ ВОЗРАСТЕ**

Результаты экспериментов на животных свидетельствуют о том, что во многих тканях чувствительность к канцерогенам с возрастом существенно изменяется. Так, у старых животных чувствительность к действию канцерогенов эпителия молочной железы, тонкой и толстой кишки, тиреоидного эпителия и фолликулярного эпителия яичников снижена, в подкожной клетчатке, шейке матки, влагалища она повышена, тогда как в легких, кровеносной ткани — с возрастом не меняется (табл. 11.5) (Anisimov, 1983, 1987, 1998, 2003; Анисимов, 2002).

Иногда тканевые различия в возрастной динамике чувствительности к канцерогенам удается наблюдать в одном эксперименте. Так, у самок крыс, которым в возрасте 3 месяцев однократно внутривенно вводили НММ в дозах 10, 20 или 50 мг/кг, под воздействием канцерогена развивались аденокарциномы молочной железы, опухоли почек, яичников и толстой кишки. Когда же канцероген вводили в тех же дозах 15-месячным крысам, то у них с высокой частотой развивались опухоли тела и шейки матки, тогда как опухоли молочной железы, кишечника, яичников и почек развивались много реже, чем у молодых животных (Anisimov, 1988). Сравнение результатов определения степени алкилирования, синтеза и репарации ДНК (по удале-



Таблица 11.5

Влияние старения на чувствительность различных тканей к канцерогенам у лабораторных грызунов (Anisimov, 1987, 1998)

Ткань-мишень	Канцерогенный агент	Эффект старения
Кожа	ДМБА, МХ, БП, ТК, УФО, β-облучение	↑
	Быстрые нейтроны, электроны	↓
Подкожная клетчатка	БП, ДМБА, МХ, НММ, полиуретановая губка, вирус Молони	↑
Кости	<sup>224</sup> Ra, <sup>227</sup> Th, <sup>239</sup> Pu, радионуклиды	=
Стенка кровеносных сосудов	ДЭНА, ДМГ	=
	Винилхлорид	↑
Кровотворная ткань	Рентгеновское и γ-облучение, эстрогены	↓
	НММ, пристан	↑=
Молочная железа	ДМБА, МХ, НММ, ААФ, рентгеновское облучение	↓
	Эстрогены	↑
Матка	ДМГ, НММ	↑
Влагалище	ДМБА	=
Яичники	Рентгеновское облучение, операция Бискиндов	↓
Яички	Быстрые нейтроны	↑
Щитовидная железа	Быстрые нейтроны, рентгеновское облучение	↓
Легкие	ДЭНА, ДБА, уретан	↓
	НММ, быстрые нейтроны, рентгеновское облучение	↑
Плевра	Асбест	↑
Печень	ААФ, АФВ <sub>1</sub> , ДМНА, ДЭНА,	↓
	Фенобарбитал, СС <sub>14</sub>	↑
Поджелудочная железа	НММ	↑
Пищевод	ДЭНА	↓
Преджелудок	ДЭНА	↓
Желудок	МННГ	↓
Тонкая кишка	МАМНА	↓
Толстая кишка	ДМГ, МАМНА	↓ (крысы)
	ДМГ, НММ	↑ (мыши)
Почка	ААФ, НММ, ДМНА	↓
Мочевой пузырь	ДМБА, БГБНА	↑

Примечание. ААФ — 2-ацетиламинофлюорен; АФВ<sub>1</sub> — афлатоксин В<sub>1</sub>; БГБНА — N-бутил-N-(4-гидроксипентил)нитрозамин; БП — бензо(а)пирен; ДБА — 1,2,5,6-добензантрацен; ДМГ — 1,2-диметилгидразин; ДМНА — диметилнитрозамин; ДЭНА — диэтилнитрозамин; МАМНА — метил-(ацетоксиметил)нитрозамин; МННГ — N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин; МХ — 3-метилхолантрен; НММ — N-нитрозометилмочевина; операция Бискиндов — пересадка яичника в селезенку кастрированной самки; ТК — табачный конденсат; УФО — ультрафиолетовое облучение; СС<sub>14</sub> — четыреххлористый углерод.

нию метильной группы в O<sup>6</sup>-положении гуанина), полученных на одной модели, позволило выявить ведущую роль возрастных изменений пролиферативной активности в ткани-мишени в механизме модифицирующего влияния возраста на канцерогенез (Anisimov, 1987, 1998). Этот вывод соответствует наблюдениям о важной роли пролиферативных процессов в процессах репарации и мутагенеза в клетке (Bielas, Heddle, 2000). В то же время установлено отсутствие единообразия в возрастных изменениях синтеза ДНК и ее репарации, а также пролиферативной активности в различных тканях (Anisimov, 1987, 1998). Активирующие *H-ras* протоонкоген мутации G35→A35 выявлялись в карциномах молочной железы, индуцированных введением НММ в возрасте 2 месяцев, но отсутствовали в опухолях крыс, которым канцероген вводили в возрасте 15 месяцев (Thompson et al., 2000). Итак, возраст в момент воздействия канцерогена играет критическую роль как в чувствительности к нему молочного эпителия, так и в молекулярных событиях, которые участвуют в развитии рака молочной железы.

Следует отметить, что существуют и другие причины широкой вариабельности результатов экспериментальных исследований с введением канцерогенов животным разного возраста. Их можно определить как факторы, связанные с особенностями экспериментальной модели, и факторы, определяемые особенностями организма. К первой группе можно отнести различия в типе использованных канцерогенных агентов (прямого или непрямого действия, различия в химической структуре и механизме действия), способах введения, длительности воздействия (однократное, курсовое или хроническое введение), такое свойство канцерогенного агента, как его местное или системное действие, время наблюдения за животными после воздействия. Среди факторов организма, модифицирующих чувствительность к канцерогену, следует отметить вид животных, линию, пол и возраст, в котором вводился канцероген.

В табл. 11.6 суммированы данные о возрастной динамике некоторых факторов, ответственных за скорость проникновения различных веществ в организм, их распределение и скорость их удаления из организма. Можно видеть, что наблюдаемые по мере старения изменения неоднозначны и могут существенно модифицировать эффект того или иного фармакологического средства или токсического агента.

Эффективная доза канцерогена непрямого действия, требующего метаболической активации в печени, может существенно различаться у молодого и старого животного, поскольку активность ферментов, необходимых для активации канцерогена в печени и других тканях может существенно изменяться с возрастом (Anisimov et al., 1993; Mayersohn, 1994) (табл. 11.7).

Критическую роль, определяющую чувствительность тканей к канцерогенам, играют синтез ДНК и пролиферативная активность ткани в момент воздействия канцерогена, а также эффективность репарации поврежденной канцерогеном ДНК. Имеющиеся данные по этому вопросу довольно многочисленны и неоднократно обсуждались в литературе (Anisimov, 1987, 1998; Hanahan, Weinberg, 2000) (см. также главу 3). Гомеостатическая регуляция

**Таблица 11.6**  
**Возрастные изменения в организме,**  
**модифицирующие фармакокинетику ксенобиотиков**  
**(Anisimov, 1987)**

Параметр	Эффект старения
Толщина эпидермиса	Уменьшение
Проницаемость кожи	Увеличение
Жизненная емкость легких	Уменьшение
Вентиляционная способность легких	Тот же
Скорость абсорбции в желудочно-кишечном тракте	» »
Кишечная абсорбция	=
Эвакуаторная функция кишечника	Уменьшение
Сывороточный альбумин	
Количество жира в теле	Увеличение
Печеночный кровоток	Уменьшение
Клубочковая фильтрация	Тот же
Почечный клиренс	» »

постоянства числа клеток в нормальных тканях отражает точное равновесие между клеточной пролиферацией и клеточной гибелью. Программированная клеточная гибель (апоптоз) является защитным механизмом, поскольку удаляет поврежденные клетки, которые потенциально могут нормально функционировать либо подвергаться злокачественной трансформации (На-

**Таблица 11.7**  
**Влияние возраста на активность ферментов,**  
**метаболизирующих канцерогены, в печени самцов крыс**  
**(Anisimov, 1987)**

Фермент	Возрастные группы, месяцы	Эффект старения
Цитохром P-450	3—6 и 27	Уменьшение
Цитохром b <sub>5</sub>	3—6 и 25	=
НАДФН-цитохром с редуктаза	3 и 24	Уменьшение
Этилморфин-N-деметилаза	16 и 27	Тот же
Аминопирин-N-деметилаза	6 и 25	=
Бензфетамин-N-деметилаза	3, 12 и 27	Уменьшение
Нитрофенол-N-деметилаза	3—5 и 14	Увеличение
Эпоксид-гидраза	3, 12 и 27	Тот же
Бензо(а)пирен гидроксилаза	3, 12 и 27	Уменьшение
Глутатион-S-трансфераза	4—5 и 24	Тот же
o-Глюкуронил-трансфераза	4, 5 и 23	» »
p-Глюкуронил-трансфераза	4, 5 и 23	Увеличение
Бета-глюкуронидаза	2 и 9	Тот же
Арил-сульфатаза А и В	3 и 24	Уменьшение

nahan, Weinberg, 2000; Evan, Littlewood, 1998; Хансон, 1999; Пальцев и др., 2000; Green, Evan, 2002). Апоптоз играет существенную роль во многих других проявлениях старения и рака, включая контроль продолжительности жизни большинства членов иммунных комплексов и скорость роста опухолей (Zhang, Herman, 2002). Супрессорный ген *p53*, участвующий в регуляции апоптоза, рассматривается как «охраняющий» механизм, предупреждающий индуцированную онкогенами пролиферацию клетки (Kinzler, Vogelstein, 1997).

Таким образом, возрастные факторы, определяющие чувствительность к канцерогенам, в значительной мере тканеспецифичны (Anisimov, 1987, 1998). Этот вывод может объяснить, по крайней мере частично, возрастные изменения в чувствительности и ее вариабельность в определенной ткани-мишени, а также органныю и тканевую вариабельность в возрастном распределении частоты спонтанных опухолей.

### 11.8. СТАРЕНИЕ И МНОГОСТАДИЙНАЯ МОДЕЛЬ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Процесс канцерогенеза, так же как процесс старения, сопровождается повреждениями генома, которые могут действовать синергично, способствуя развитию рака (Hanahan, Weinberg, 2000; Vijn, 2000; Luzatto, 2001; Balmain et al., 2003; Имянитов, Хансон, 2007). Среди этих нарушений ключевую роль играют три развивающихся с возрастом изменения в ДНК: нестабильность генома, гипометилирование ДНК и образование аддуктов ДНК.

Нестабильность генома возникает при активации генов, таких как клеточные протоонкогены, которые в норме супрессированы, и/или инактивация опухолевых супрессорных генов (*p53*, *Rb* и некоторых других) (Kinzler, Vogelstein, 1997; Имянитов, 1999; Hanahan, Weinberg, 2000). Гипометилирование ДНК — такая же характерная черта трансформированных клеток, как и старения. Являясь одним из потенциальных механизмов активации онкогенов, гипометилирование может приводить к спонтанному деаминированию цитозина и последующей транзиции пар оснований, т. е. замене пары тимин—аденин. Накопление несоответствующих пар оснований, приводя к активации клеточных протоонкогенов, может быть причиной опухолевой трансформации (Hanahan, Weinberg, 2000). Возрастные нарушения обмена ДНК могут быть ткане- и геноспецифичными. Так, гипометилирование протоонкогена *c-myc* было обнаружено в гепатоцитах, но отсутствовало в нейронах старых мышей (Matoha et al., 1987; Ono et al., 1993). Даже в пределах одной клетки различные сегменты ДНК могут в разной степени подвергаться гипометилированию при старении. Неравномерное распределение гипометилирования может приводить к избирательной избыточной экспрессии протоонкогенов старой клеткой. Например, транскрипция *c-myc* прогрессивно увеличивалась с возрастом в печени, но не в мозге крыс между 4 и

22-м месяцами жизни, тогда как транскрипция *c-sis* и *c-src* не изменялась с возрастом ни в одной из изученных тканей (Matoha et al., 1987; Ono et al., 1993). Различная степень повреждения ДНК в разных тканях при старении может определять, по крайней мере частично, различия в чувствительности этих тканей к канцерогенам (Catania, Fairweather, 1991).

Считается, что повреждения ДНК, вызываемые эндогенными активными формами кислорода (АФК), вносят основной вклад в развитие процессов старения и канцерогенеза (Yu, 1993; Shigenaga et al., 1994). Установлено, что степень эндогенного окислительного повреждения липидов и белков увеличивается с возрастом (Ames et al., 1993). АФК вызывают мутации, активирующие протоонкоген *c-Ha-ras* человека (Du et al., 1994). Концентрация окисленного нуклеозида 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина в ДНК увеличивается с возрастом в печени, почках и кишке, но остается неизменной в мозге и яичках крыс, при этом экскреция его с мочой с возрастом уменьшается (Fraga et al., 1990).

Имеются многочисленные доказательства накопления с возрастом спонтанных мутаций в соматических и половых клетках (Vijg, 2000; Розенфельд, 2001). Этот процесс может приводить к нестабильности генома и, следовательно, увеличивать чувствительность к действию канцерогенов и опухолевых промоторов. Клонально распространяющиеся мутации митохондриальной ДНК (мтДНК) накапливаются с возрастом как в нормальных тканях, так и в опухолях человека (Nekhaeva et al., 2002). Наблюдения, что в мышечной ткани человека с возрастом накапливаются делеции мтДНК и происходит ее частичное удвоение (Bodyak et al., 2001), позволяют предполагать важную роль клональной экспансии мутантной мтДНК в развитии при старении системного окислительного стресса в организме в целом (de Grey, 2000). Была обнаружена существенная тенденция к увеличению с возрастом частоты мутаций в онкогене *p53* в различных тканях и опухолях (Ouhit et al., 1997; Liang et al. 1999). Simpson (1997) полагает, что в теле пожилых людей происходит отбор преобладающих мутаций, что способствует накоплению достаточного количества мутаций для запуска многостадийного процесса канцерогенеза. Указывают, что в развитие опухоли вносят свой вклад как генетические особенности отобранных клеточных клонов, так и эпигенетические особенности окружающей среды (Chow, Rubin, 2000).

Потомки 25-месячных самцов крыс, спаренных с 3-месячными самками, имели большую чувствительность к канцерогенному действию НММ по сравнению с потомством молодых самцов и самок (Anisimov, Gvardina, 1995). Используя материалы базы данных Шведского ракового регистра для анализа влияния возраста отца на частоту рака у потомства в возрасте 15—53 лет, К. Hemminki и Р. Кууронен (1999) установили, что больший возраст отца увеличивает риск развития спорадических опухолей нервной системы на 15 %, тогда как возраст матери имеет значение в развитии меланомы и лейкозов, проявляясь 30 % увеличением их риска в случаях, когда матери были старше 40 лет, по сравнению с потомством матерей, которые

были моложе 20 лет. Предполагается, что накопление хромосомных aberrаций и мутаций в половых клетках ответственно за развитие опухолей у потомства (Hemminki, Kuurola, 1999). Выявлено трехкратное превышение риска развития ретинобластомы у детей, отцам которых было 45 лет и более, по сравнению с потомством более молодых отцов (Dockerty et al., 2001). В этом же исследовании представлены данные, свидетельствующие о том, что риск острого лимфолейкоза существенно увеличен у детей, чьи родители были старше, и была выявлена отчетливая положительная тенденция к увеличению риска рака при увеличении возраста отца и матери. Следует отметить, что частота мутаций в сперматогенных клетках старых мышей существенно повышена по сравнению с таковой у молодых мышей или животных среднего возраста (Walter et al., 1998). Было обнаружено, что у людей частота новых доминантных мутаций увеличивается экспоненциально с увеличением возраста отца, но не матери (Risch et al., 1987).

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что ряд возрастных изменений в структуре и функции ДНК вовлечен в процесс естественного старения. Характер этих изменений может различаться в разных тканях, что определяет неравномерность скорости их старения. Недавно M. Dolle и соавт. (2002), используя трансгенных мышей с встроенным шаттл-вектором *lacZ*, определили спектр спонтанных точечных мутаций в различных органах молодых и старых животных. В то время как спектр мутаций был одинаков в органах молодых мышей, он существенно различался у старых животных. Авторы подчеркивают, что сама по себе репликативная история тканей не является причиной органоспецифичных различий спектра мутаций в старческом возрасте. Скорее, различия в функции органов, связанные с их репликативной историей, могут приводить к расхождениям в спектре мутаций в процессе старения. Это в свою очередь может объяснить как возрастное увеличение частоты спонтанных опухолей, так и возрастные изменения в чувствительности разных органов к канцерогенным агентам.

Канцерогенез — многостадийный процесс, в течение которого нормальная стволовая клетка проходит последовательно несколько стадий, прежде чем станет полностью злокачественной (Напалков и др., 1987; Ponten, 2001; Reya et al., 2001; Schlessinger, Van Zant, 2001). Многостадийный канцерогенез сопровождается многообразными нарушениями тканевого гомеостаза и нарушениями в нервной, эндокринной и иммунной системах, которые угнетают противоопухолевую резистентность организма. Развитие этих нарушений зависит от чувствительности различных систем к действию канцерогенов и от дозы канцерогена. Изменения в микроокружении поврежденной клетки играют ключевую роль в канцерогенезе и определяют длительность каждой стадии канцерогенеза, и при некоторых условиях могут даже вызывать обратное развитие опухолевого процесса. В конечном счете изменения в микроокружении оказывают решающее влияние на скорость пролиферации трансформированных клеток, общую длительность канцерогенеза и соответственно латентный период развития опухоли (рис. 11.5).

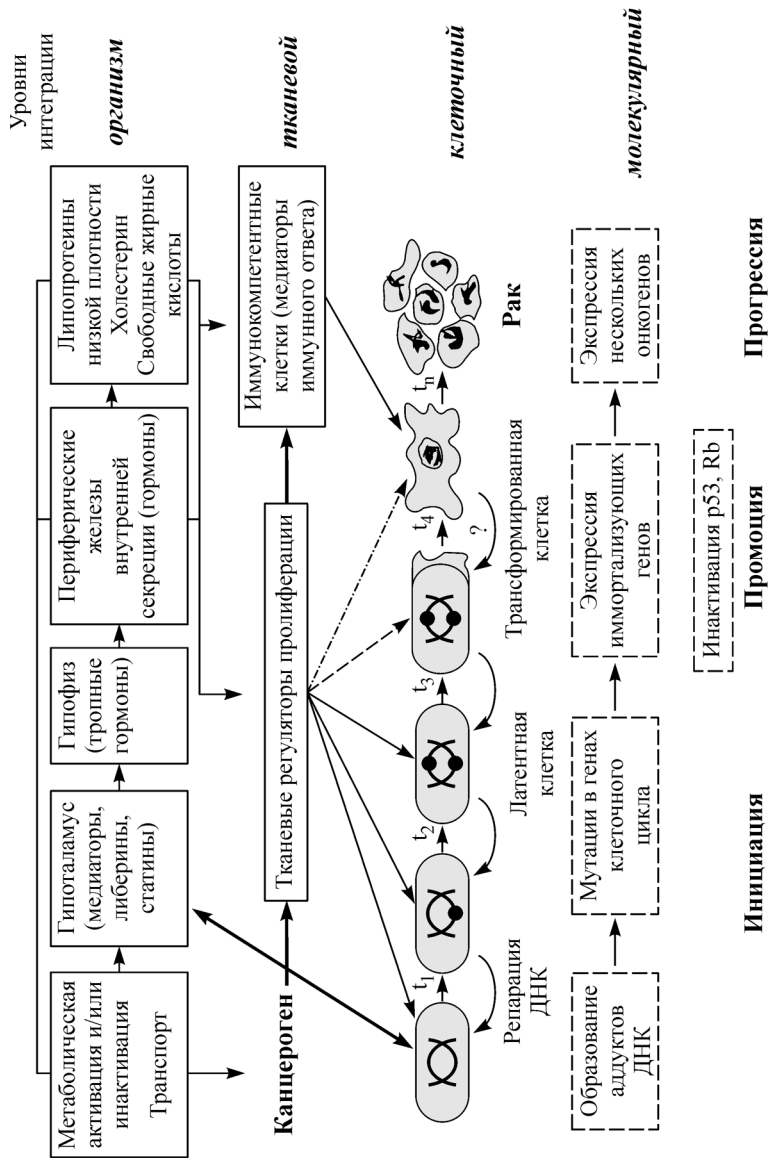


Рис. 11.5. Интегральная схема канцерогенеза (Anisimov, 1998).

### 11.9. ВОЗРАСТНАЯ АККУМУЛЯЦИЯ ИНИЦИИРОВАННЫХ КЛЕТОК В ТКАНЯХ

Есть основания полагать, что с возрастом в тканях организма происходит накопление клеток, которые находятся на поздних стадиях многостадийного процесса канцерогенеза. Об этом свидетельствуют результаты многих экспериментов. Так, при однократной аппликации на кожу 8- или 48-недельных мышей ДМБА в дозах от 10 до 300 мкг наблюдали увеличение частоты развития папиллом у более старых животных (табл. 11.8) (Stenback et al., 1981). У них опухоли достигали больших размеров.

Частота развития папиллом кожи после смазывания ее 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетатом (ТФА) была в 6 раз выше у 14-месячных мышей по сравнению с 4-месячными (Stenback et al., 1981). Большой интерес представляют результаты опытов с реципрокной пересадкой кожных лоскутов. Нанесение ТФА на трансплантат кожи от 2-месячных доноров реципиентам разного возраста не вызывало у них развития опухолей. Однако опухоли кожи возникали с одинаковой частотой, когда ТФА наносился на лоскуты годовалых доноров вне зависимости от возраста реципиентов (Ebbesen, 1985). Эти наблюдения убедительно свидетельствуют о том, что только возраст ткани-мишени определяет ее чувствительность к воздействию опухолевых промоторов.

Нанесение кожных ран через 16 недель после аппликации инициирующей дозы канцерогена приводило к более интенсивному развитию опухолей по сравнению с таким же ранением, но произведенным лишь спустя 6 недель после нанесения канцерогена у молодых мышей (Hennings, Boutwell, 1970). Отложенная промоция также была эффективней при использовании в качестве промотора хризаробина или мезереина (Kruszewski et al., 1987). Эти наблюдения согласуются с данными о возрастном снижении эффективности репарации ДНК в коже (Moriwaki et al., 1996; Wei, 1998) и увеличении частоты мутаций в антионкогене *p53* по мере увеличения возраста в нормальной коже человека (Ouhtit et al., 1997) и в базальноклеточных карциномах кожи (D'Errico et al., 1997; Liang et al., 1999). Однако в некоторых

*Таблица 11.8*

**Частота развития опухолей кожи у мышей  
при однократной аппликации ДМБА  
(Stenback et al., 1981)**

Доза ДМБА, мкг	Возраст	
	8 недель	48 недель
10	0	1.3
30	0	6.3
100	21	18
300	30	47



Таблица 11.9

**Развитие опухолей кожи у трансгенных Tg.AC (*v-Ha-ras*) мышей, подвергшихся воздействию ТФА, при ранении кожи или УФ-облучении (Battalora et al., 2001)**

Воздействие	Возраст в начале воздействия	
	10 недель	32 недели
	Среднее число папиллом кожи на 1 мышь	
4×2.5 мкг ТФА	0.7	12.0
4×5.0 мкг ТФА	5.9	27.8
4×10.0 мкг ТФА	16.9	23.5
Нанесение раны	0.9	5.4
УФ-облучение	2.4	8.3

исследованиях частота развития папиллом кожи не зависела от возраста, в котором воздействовали канцерогеном и промотором опухолевого роста, или даже снижалась (Roe et al., 1972; Van Duuren et al., 1975). Имеются данные о снижении репарации повреждений ДНК, индуцируемых ультрафиолетовым облучением (УФО) и последующим накоплением мутаций в первичных культурах фибробластов кожи от здоровых доноров в возрасте от 0 до 100 лет (Mogiwaki et al., 1996). Предполагается, что с возрастом увеличивается количество экспрессирующих теломеразу базальных клеток в коже (Ueda, 2000).

У трансгенных мышей Tg.AC, трансфицированных онкогеном *v-Ha-ras*, частота возникновения папиллом кожи и их множественность была существенно большей при аппликации ТФА, нанесении кожной раны или воздействию УФ облучения в возрасте 32 недель по сравнению с такими же воздействиями в возрасте 10 недель (табл. 11.9) (Battalora et al., 2001). Авторы полагают, что естественные процессы, происходящие в кератиноцитах при старении, кооперируются с молекулярными механизмами, вызывающими индукцию экспрессии трансгена, тем самым оказывая стимулирующее влияние на развитие опухолей кожи у старых мышей.

О возрастном накоплении в тканях клеток, которые находятся на поздних стадиях канцерогенеза, свидетельствуют результаты и других опытов. Модель гепатоканцерогенеза у мышей весьма удобна для изучения этого вопроса, поскольку имеется много линий мышей с различной чувствительностью к гепатоканцерогенезу. У мышей высокочувствительных к гепатоканцерогенам линий концентрация гепатоцитов, находящихся на последних стадиях канцерогенеза, быстро увеличивается с возрастом (Lee et al., 1989). В печени крыс линии F344 число спонтанных пролиферативных узелков прямо пропорционально возрасту животных (Ward et al., 1988; Krappr-Grasl et al., 1991). Частота пролиферативных узелков и гепатом, индуцируемых фенобарбиталом, четыреххлористым углеродом или веществами, вызывающими пролиферацию клеточных пероксисом (клофибрат, нафено-

Таблица 11.10

Развитие новообразований под влиянием опухолевых промоторов в разном возрасте у животных, не подвергавшихся воздействию инициаторов (Anisimov, 1998)

Ткань-мишень	Вид	Воздействие, агент	Возрастные группы, мес.	Наблюдаемый эффект
Кожа	Мышь	ТФА*	4 и 14	↑
Печень	Мышь	Фенобарбитал	1.5 и 12	↑
	Крыса	Фенобарбитал	1 и 26	↑
		Частичная гепатэктомия + + фенобарбитал	5 и 18	↑
		CCl <sub>4</sub>	1—6 и 12	↑
		Клофибрат, нафенопин	3 и 18	↑
		Клофибрат, Wу-14643	2.5 и 23	↑
Молочная железа	Крыса	Эстрадиол	1 и 20	↑
Яичник	Крыса	Операция Бискиндов**	3 и 14	↑

Примечание. \* — 12-О-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетат; \*\* — пересадка яичника в селезенку после овариоэктомии.

пин), была существенно выше, если воздействие начинали у старых животных (Ward, 1983; Ward et al., 1988; Kraupp-Grasl et al., 1991; Youssef et al., 2003). Другая модель была использована для индукции лимфом у мышей, которым вводили взвесь клеток селезенки, тимуса и лимфоузлов от сингенных доноров разного возраста (Ebbesen, 1971). Частота развившихся ретикулосарком была пропорциональна возрасту донора, но не реципиента. S. F. Geschickter и соавт. (1942) наблюдал развитие опухолей молочной железы при введении эстрогенов, начатом в возрасте 1 или 20 месяцев, через 9, 5 и 3 месяца соответственно (табл. 11.10).

НММ в дозах 10, 20 или 50 мг/кг вводили однократно в вену самкам мышей в возрасте 3 или 15 месяцев (Anisimov, 1993). Произведенные в соответствии с многостадийной моделью канцерогенеза расчеты показали, что число стадий, необходимых для развития злокачественных опухолей, при введении канцерогена 15-месячным мышам было меньшим, чем при воздействии в возрасте 3 месяца. В этом опыте, так же как и в ряде других, с введением НММ крысам и мышам опухоли развивались быстрее у старых животных, чем у молодых (Anisimov, 1993, 1998a). Частота развития атипичной гиперплазии и аденокарцином эндометрия увеличивалась пропорционально интервалу между иницирующим введением мышам НММ и началом промотирующего воздействия эстрадиола (Takahashi et al., 2001). Разработка новой оптической системы, основанной на светоразделяющей спектроскопии, позволяющей выявлять предраковые процессы и преинвазивные карциномы в теле человека (Backman et al., 2000), может оказаться

Таблица 11.11

**Органы старых крыс, в которых были обнаружены очаги гиперплазии и пролиферации (Burek, 1978; Kroes et al., 1981; Ward et al., 1983; Anisimov, 1987)**

Орган	Патоморфологические находки
Аорта	Пролиферация миointимальных клеток
Легкое	Аденоматозная гиперплазия
Печень	Пролиферация эпителия желчных протоков, очаговая пролиферация гепатоцитов (гамма-глутамилтранспептидаза — положительные очаги)
Почки	Папилломатозная гиперплазия переходного эпителия почечной лоханки
Мочевой пузырь	Гиперплазия эпителия
Гипофиз	Гиперплазия базофильных и хромофобных клеток, гиперплазия средней доли гипофиза
Щитовидная железа	Пролиферация парафолликулярных клеток
Паращитовидная железа	Гиперплазия
Кора надпочечников	Очаговая гиперплазия коры, очаговая гиперплазия медуллярных клеток
Поджелудочная железа	Гиперплазия протоков, ацинусов и островков
Яичники	Фолликулярные кисты, гиперплазия интерстициальной ткани
Матка	Железисто-кистозная гиперплазия и полипы эндометрия
Молочная железа	Гиперплазия альвеолярных очагов, мастопатия
Яички	Гиперплазия интерстициальных клеток
Предстательная железа	Метаплазия эпителия, внутриальвеолярная атипическая гиперплазия
Слюнные железы	Гиперплазия эпителия протоков
Преджелудок	Гиперплазия и гиперкератоз

весьма перспективной для количественной характеристики их накопления с возрастом в различных тканях. В табл. 11.11 приведены данные об органах старых крыс, в которых были обнаружены очаги гиперплазии и пролиферации.

Некоторые эксперименты *in vitro* подтверждают наблюдения, сделанные на животных. Так, воздействие ДМБА вызывало более быстрое появление фокусов трансформации в эпителии мочевого пузыря (на 40—60-й день) и с большей частотой (25 %) в эксплантатах старых (28—30 месяцев) мышей, по сравнению с эксплантатами молодых (5—7 месяцев) животных, у которых очаги трансформации можно было обнаружить через 100 дней в 0.9 % случаев. Случаи спонтанной трансформации эпителия мочевого пузыря наблюдались только в эксплантатах старых мышей (Summerhayes, Frank, 1979). Первичные культуры фибробластов от старых крыс были более чувствительны к трансформации, индуцируемой вирусом SV-40, чем от молодых (Kunisada et al., 1990). Однако P. Nettesheim и соавт. (1981) сообщили,

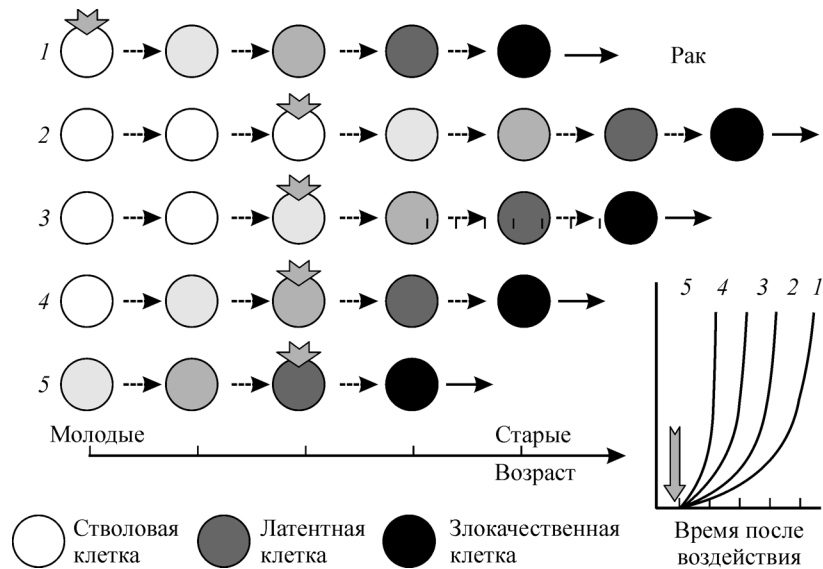


Рис. 11.6. Многостадийная модель при канцерогенезе в разном возрасте (Anisimov, 1998).  
 1—5 — различные варианты воздействия канцерогенеза на клетки-мишени (объяснения в тексте).

что чувствительность эксплантатов эпителия трахеи старых животных к канцерогенам была меньшей, чем эксплантатов от молодых животных.

Следует подчеркнуть, что число событий (стадий), необходимых для полной трансформации нормальной стволовой клетки, весьма вариабельно и зависит от скорости старения самой ткани-мишени и систем, ее регулирующих (рис. 11.6) (Anisimov, 1998).

Этой модели соответствуют данные о возрастном распределении частоты опухолей различных локализаций у человека и животных (Anisimov, 1987; Parkin et al., 2001). Старые животные могут быть вполне адекватной моделью для оценки канцерогенности агентов с предполагаемой невысокой канцерогенной активностью и опухолевых промоторов (Анисимов, 1989, 1997, 2002; Anisimov, 1998a).

### 11.10. ВЛИЯНИЕ СТАРЕНИЯ НА РОСТ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ

Важным аспектом во взаимоотношениях старения и канцерогенеза является вопрос о роли возрастных изменений в микроокружении тканей, которые могут как способствовать, так и препятствовать канцерогенезу. R. Peto и соавт. (1975) высказали предположение, что эксперименты с трансплантацией опухолей животным разного возраста позволят объективно оценить роль изменений, развивающихся в организме при старении, на рост и про-

**Таблица 11.12**  
**Влияние возраста на рост перевиваемых опухолей**  
**(Anisimov, 1987, 2003)**

Опухолевый штамм	Вид	Возрастные группы	Эффект возраста
Эпидермоидная карцинома Н.Ер.#3	Мышь	4—8 и 20—23	↑
Плоскоклеточный рак шейки матки	Тот же	3 и 12	=
SCC		3 и 18	↑
Меланома В16	» »	3 и 12	↓
		3 и 22	=
		3 и 24	↓
Рак молочной железы	» »	3.5 и 16.5	↓
спонтанный		10—11 и 21—22	↓
асцит Эрлиха		3 и 16.5—18	↑
EMT6		3—4 и 20—28	↑
МАТ-21		2 и 4—5	↓
А-755		3 и 18	↑
Walker-256	Крыса	2 и 24	↓
Карцинома легкого Льюис	Мышь	3 и 18	=
		2 и 24	↑
		3 и 33	↓
Карцинома легкого-1	Тот же	3—8 и 18—23	↑
Гепатома-22а	» »	3 и 14—16	↑
Гепатома Новикова	Крыса	4.5 и 27.5	↓
Тератокарцинома ОТТ 6050	Мышь	2 и 16	↓
Метилхолантреновая саркома	Тот же	6 и 22	↑
	» »	2—3 и 10—21	↑
	Крыса	1—10 и 12—15	↓
		8—20 и 29—32	↑
Фибросаркома 1023	Мышь	2 и 4—5	↑
Фибросаркома 1591	Тот же	2—6 и 10	↑
Саркома 180	» »	3 и 18	↑
Остеогенная саркома	» »	2—3 и 10—17	=
Саркома матки	» »	3 и 12	=
Фибросаркома	Крыса	4 и 12	↓
Асцитная фибросаркома	Тот же	3—4 и 16—18	↑
Мастоцитомы Р815	Мышь	3 и 25	↑
		3—12 и 20—32	↑
Ретикулоклеточная опухоль типа А	Тот же	8 и 11—17	↓
Лейкоз L1210	» »	3 и 11	=
Гемоцитобластома La	» »	3 и 19	=
Миелома LCP-1	» »	2—3 и 19—20	↓

Примечание. ↑ — Увеличение прививаемости, скорости роста опухоли или уменьшение выживаемости животного-опухоле носителя; ↓ — противоположный эффект; = — отсутствие эффекта.

Таблица 11.13

**Частота опухолей, развившихся в печени после введения в портальную вену клеток гепатомы BAG2-GB6TF крысам разного возраста (McCullough et al., 1994)**

Время после прививки опухоли, сут.	Частота гепатом	
	молодые (3—9 мес.) крысы	старые (18—24 мес.) крысы
7	9/9	5/5
14	10/10	5/6
21	4/6	2/3
85	0/18	17/19

грессию трансформированных клеток. В том случае, если при старении действительно изменяется микроокружение, в котором развивается опухоль, то скорость роста перевитых опухолей будет варьировать в зависимости от возраста реципиента. Критерии для оценки результатов таких экспериментов должны включать: 1) прививаемость опухоли; 2) скорость роста опухоли; 3) выживаемость животного с привитой опухолью. Такие показатели «естественной истории» развития спонтанных опухолей, как скорость удвоения опухоли, метастатический потенциал и выживаемость пациентов с вновь выявленными новообразованиями в разном возрасте, могут представить важную информацию о влиянии возраста на рост опухолей у человека и животных. Имеющиеся по этому вопросу данные весьма противоречивы как в отношении опухолей человека, так и в отношении перевиваемых опухолей у лабораторных животных (Anisimov, 1987; Ershler, 1992; Miller, 1993). В целом анализ литературных данных свидетельствует о том, что возраст может существенно модифицировать рост опухолей. Ключевым фактором в этом процессе часто оказывается гистогенез опухоли (табл. 11.12).

Эпителиальные опухоли росли либо быстрее (2/3 всех эпителиальных опухолей), либо медленнее (1/3) у старых животных, причем не было закономерности даже в перевиваемых опухолях одного происхождения, например молочной железы и печени. Вместе с тем различные фибросаркомы, как правило, росли быстрее у старых животных, хотя были и исключения (см. табл. 11.12). Возраст не влиял на развитие перевиваемых гемобластозов или ослаблял его (Anisimov, 1987).

В наших опытах клетки рабдомиосаркомы RA-2, обладающей способностью расти только в легочной ткани, вводили внутривенно крысам разного возраста (Anisimov et al., 1988). Количество опухолевых узлов, развившихся в легких, было максимальным у 1-месячных и 15-месячных крыс и минимальным у 3- и 12-месячных. Была выявлена положительная корреляция между количеством развившихся в легких колоний опухолевых клеток. Количество очагов опухолевого роста в легких у молодых реципиентов суще-

ственно снижалось, когда им прививали клетки от старых доноров (Anisimov, 2003).

McCullough et al. (1994) обнаружили, что при прививке клеток гепатомы в портальную вену молодых крыс число развившихся узлов и их размеры были меньше, чем при прививке такого же числа клеток гепатомы в портальную вену старых животных (табл. 11.13). Интересно, что если клетки этой же гепатомы перевивали подкожно молодым и старым крысам, различий в прививаемости и скорости их роста не наблюдалось. Эти наблюдения убедительно свидетельствуют о важной роли микроокружения в ткани-мишени для развития трансформированных клеток.

При анализе результатов опытов с трансплантацией опухолевых клеток животным разного возраста следует учитывать возможные различия в иммуногенности прививаемых опухолей (Anisimov, 1987).

### 11.11. КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ: РОЛЬ ТЕЛОМЕР И ТЕЛОМЕРАЗЫ

Вопрос о соответствии клеточного старения *in vitro* и *in vivo* уже обсуждался в главе 5. Этот аспект представляется принципиально важным, поскольку предполагается, что репликативное (клеточное) старение является механизмом, защищающим организм от рака, хотя этот же механизм накопления клеток на последних стадиях из репликативной жизни может быть ответственным за процесс старения и увеличение чувствительности к канцерогенам (Campisi et al., 2001, 2007; Campisi, 2005). Следует заметить, что при успешной химиотерапии опухолей у мышей включается программа клеточного старения, контролируемая *p53* and *p16<sup>INK4a</sup>*, тогда как у мышей с перевитыми опухолями, имеющими дефект в механизме клеточного старения, ее эффективность значительно ниже и прогноз существенно хуже (Schmitt, 2003).

Соматические клетки животных некоторых видов (например, рыб) имеют иммортализованный фенотип, однако частота развития опухолей у них не отличается от других видов (Macieira-Coelho, 2001). С другой стороны, существуют как иммортализованные клеточные линии, в которых не удается обнаружить теломеразу (Bryan et al., 1995), так и стволовые клетки или нормальные соматические клетки, экспрессирующие теломеразу, в которых тем не менее при культивировании происходит укорочение теломер (Counter et al., 1995; Chiu et al., 1996).

Чувствительность к вызываемой канцерогенными агентами трансформации клеток на разных стадиях пролиферативного старения различается в зависимости от типа агента. Так, молодые клетки (находящиеся на ранних пассажах) более чувствительны к трансформации химическими канцерогенами и малыми дозами ионизирующей радиации; чувствительность к действию ультрафиолетового облучения не изменяется на протяжении репликативной жизни фибробластов человека, тогда как чувствительность к опухо-

левым промоторам, идентичная в течение почти всей репликативной жизни клеток, увеличивается в финальной стадии, когда также максимальна чувствительность к трансформирующему действию вируса SV40 (Macieira-Coelho, 1994, 2001).

Фибробласты, полученные от взрослых крыс, были значительно чувствительнее к трансформации, индуцируемой онкогеном *v-scr*, чем эмбриональные клетки (Tavoloni, Inoue, 1997). Исследование роли организменных факторов старения в чувствительности первичных клеток *in vitro* к трансформирующему действию SV-LT показало, что она пропорциональна возрасту донора (Kunisada et al., 1990). Онкоген *ras* вызывает обусловленное индукцией *p53* и *p16* преждевременное репликативное старение в первичных культурах клеток грызунов и человека (Serrano et al., 1997). Авторы полагают, что индукция преждевременного клеточного старения в ответ на аномальные митогенные сигналы представляет собой механизм подавления опухолевого роста. Инактивация такого антипролиферативного ответа способствует беспрепятственной пролиферации в присутствии онкогенного стимула. Эти наблюдения позволяют объяснить роль большой мутабельности участвующих в индуцируемом онкогенами клеточном старении генов *p53* и *p16* в процессе опухолевой прогрессии (Serrano et al., 2001). Индукция клеточного старения активными онкогенами, такими как *ras*, свидетельствует о том, что оно является программированным ответом клеток, который может запускаться не только по мере их удвоения, но и некоторыми пролиферативными стрессорами (Bringold, Serrano, 2000). Применение микроциповой технологии для изучения связанных с репликативным старением генов в фибробластах кожи, пигментных клетках сетчатки и эндотелиальных клетках сосудов позволило установить, что характеристики репликативного старения весьма тканеспецифичны (Shelton et al., 1999). Так, в фибробластах экспрессируются провоспалительные гены, лишь в ограниченной степени перекрещивающиеся с характером генной экспрессии при старении *in vitro* двух других типов клеток.

В последние годы достигнут значительный прогресс в изучении роли теломер в старении. Дисфункция теломер, связана ли она с опосредованным делением клетки укорочением, прямым повреждением или ассоциированным с теломерой дефектным белком, может приводить к трем последствиям: клеточному старению, клеточной гибели (апоптозу) или нестабильности генома (Kim et al., 2002). Нестабильность генома является фактором, предрасполагающим к злокачественной трансформации клетки, тогда как клеточное старение и апоптоз играют роль факторов подавления неопластического процесса.

Клеточное старение рассматривают как один из защитных механизмов клетки при дисфункции теломер, поскольку оно останавливает пролиферацию, тем самым блокируя канцерогенез (Campisi et al., 2001; Kim et al., 2002; Krtolica, Campisi, 2003). В течение жизни в организме накапливаются соматические мутации, часть из которых может инактивировать гены, необходимые для клеточного старения (Dolle et al., 2000). Кроме того, поте-



ря гетерозиготности и мутации в генах-супрессорах (*p53* и *Rb*) и онкогенах (например, *ras*) может иметь место даже в нормальных клетках (Kim et al., 2002). Другим защитным механизмом клетки с дисфункцией теломер, в который вовлечен интактный *p53*, является апоптоз. В клетках, в которых накапливаются мутации в самом *p53* или в других компонентах его регуляции, развивается нестабильность генома, во много раз повышающая вероятность злокачественной трансформации.

Потеря дистальных областей теломер коррелирует с уменьшением пролиферативной жизни клеток как *in vitro*, так и *in vivo*. Регрессионный анализ данных по укорочению длины теломер в 15 различных тканях человека показал, что скорость укорочения теломер составляет от 20 до 60 пар оснований в год (Takubo et al., 2002). Подчеркивается, что длина теломер не имеет четкой корреляции со временем обновления тканей *in vivo*, а скорее является индивидуальной характеристикой организма.

В настоящее время активно развивается гипотеза о важной роли укорочения теломер и реактивации теломеразы соответственно в процессах старения и канцерогенеза (Campisi et al., 2001; Neidle, Parkinson, 2002). В опухолях человека иммортализация почти всегда обусловлена подавлением гена каталитической субъединицы теломеразы (*hTERT*). Подавление транскрипции *hTERT* в клетках человека *in utero*, посттранскрипционные и эпигенетические изменения в этом гене и, возможно, некоторые другие факторы, предотвращающие образование функционирующей теломеры, ответственны за «мортализацию» нормальных соматических клеток. Множественность механизмов, подавляющих или регулирующих активность теломеразы, может объяснить исключительную редкость спонтанной иммортализации нормальных клеток человека. С другой стороны, введение *hTERT* иммортализирует различные типы клеток человека без последующего развития опухолевого роста (Harley, 2002). Следует отметить, что в некоторых весьма злокачественных и метастазирующих опухолях, например нейробластоме, активность теломеразы не выявляется (Harley, 2002). Более того, показано, что трансфекция теломеразы в эпителиальные клетки, полученные от пациентов с синдромом Li Fraumeni, поддерживает длину теломер, увеличивает продолжительность репликативной жизни клеток и предотвращает их спонтанную иммортализацию (Elmore et al., 2002). Интересно, что активность теломеразы в микроскопически нормальной ткани печени мышей в возрасте 8 недель была существенно большей, чем в печени 110-недельных мышей (King et al., 1999). При этом в гепатоцеллюлярных аденомах и гепатокарциномах, развившихся у старых мышей, активность теломеразы не была увеличенной.

Предполагается, что основная функция дикого типа супрессорного гена *p53* состоит в запуске остановки роста в ответ на потерю теломер в старых клетках (Wynford-Thomas et al., 1995). Этой гипотезе не противоречат данные о поведении большинства опухолей, в которых этот ген мутирован, и объясняет существование и характеристики редких типов опухолей, в которых функция *p53* сохранена.

Рак — это заболевание, при котором клетки не стареют. Естественные защитные системы организма против рака можно разделить на две группы: системы внутри- и внеклеточной защиты. К внутриклеточным можно отнести три активные последовательные линии защиты: репарацию ДНК, систему контроля клеточного цикла и клеточное старение. К внеклеточным системам относятся регуляция ангиогенеза (в солидных опухолях), воспаление и активный иммунный надзор. Неэффективность всех этих механизмов вместе приводит к экспоненциальному росту рака с возрастом.

Связывания АФК в митохондриях недостаточно для предотвращения повреждения ДНК. Подсчитано, что в клетках ежедневно тепловое повреждение разрывает связи белок—дезоксирибоза-N-гликозильные сшивки от 5 до 10 тысяч раз. Системы репарации ДНК весьма совершенны, но не безупречны. Частые повреждения приводят к выключению опухолевых супрессорных генов или генов, которые угнетают рост или обеспечивают апоптоз. Рак возникает из-за генетических ошибок в таких единичных клональных клетках, хотя могут наблюдаться и поликлональные раки (Schwartz et al., 2002).

При отсутствии репарации клетка ограничивает репликацию ДНК. Система разрыва клеточного цикла отлична в нормальных и злокачественных клетках. В норме клетки распознают и репарируют поврежденную ДНК (Hoeijmakers, 2007), но неспособны распознавать или производить репарацию клеточный цикл остается заблокированным. Ключевыми являются несколько точек, каждая из которых важна для поддержания стабильности хромосом. Например, при выключении киназы «контрольной точки» в клетке усиливается репарация ДНК и происходит блокада клеточного цикла и репликации ДНК.

Поврежденные связывающиеся с ДНК белки связыванием высвобождают p53 и стимулируют ингибитор клеточного цикла p21<sup>WAF1</sup>, а также вызывают изменения в p16, p19, p73, PARP, D циклинах, cdk's, ARF, и т. д. (Sherr, 2000/2001). Быстрый, альтернативный путь, опосредованный Cdc25A, не зависит от p53 и p21, приводит к остановке клеточного цикла в фазе G1 (Mailand et al., 2000). Однако дополнительно повреждение ДНК стимулирует остановку клеточного цикла и репарационную функцию. Клетки, лишенные этих угнетающих механизмов являются биологически, если уже не клинически, злокачественными (Shay et al., 1991).

Наиболее часто мутированным геном рака человека является мутированный p53. Полагают, что 60 % всех злокачественных опухолей человека содержат дефектный белок p53, ненормальное связывание которого делает его неэффективным. Сходные аллельные варианты p53 обнаружены в спонтанно иммортализованных клетках, полученных от облученных высокими дозами радиации людей, переживших атомную бомбардировку (Honda et al., 1996).

Пациенты с герминогенными мутациями p53 имеют высокую частоту всех типов рака; у больных с синдромом Ли—Фраумени это особенно проявляется высокой частотой рака молочной железы. Нормальный белок p53 необходим для ограничения клеточных делений, как это показано его вы-

ключением и включением. Мутантный p53 делает раковые клетки более устойчивыми к гипоксии и к угнетению ангиогенеза. Напротив, мыши со сверхактивным p53 имеют сниженную частоту опухолей (Tyner et al., 2002). Когда p53 теряется в культуре клеток H1299 человеческого немелкоклеточного рака легкого трансфекция дикого типа (т. е. нормального) гена p53 вызывает потерю теломерного сигнала и апоптоз. Активация p53 приводит к остановке роста или апоптозу, но его делеция эффективно предотвращает это, только когда происходит рано в онкогенезе, до каскада «генетической катастрофы» (Chin et al., 1999).

Клеточное старение — это последняя внутриклеточная защита от рака (Campisi, 2005). При репликативном старении замедляется и полностью прекращается деление клеток и, соответственно, злокачественный рост. Здесь усматривается хорошая аналогия с акселератором, тормозом и баком для горючего (de Lange, DePinho, 1999). В отсутствие внешнего сигнала (акселератор) нормальные клетки (автомобиль) являются покоящимися. Поврежденная ДНК (акселератор нажат) вызывает деление, но клетки распознают проблему и вызывают торможение клеточного цикла (нажимают на тормоз). Если клеточное торможение недостаточно, укорочение теломер ускоряет старение. Раковые клетки экспрессируют теломеразу и делятся (наполняют бак) непрерывно.

Укорочение теломер проявляется активированием p53 и, напротив, теломерные повторы специфически стабилизируют белок p53. Клетки с нарушенной функцией p53 пролиферируют ограниченное число раз после репликативного лимита, характерного для фенотипа. Аналогично отсутствие функционирующего белка ретинобластомы (Rb) (или утрата функции p16INK4, обрывающего регуляцию белка ретинобластомы) позволяет только временное продолжение пролиферации. Транзиторный эффект может быть эпигенетическим. Эти два эффекта являются аддитивными, независимо контролирующими деление, и, хотя разделяются обоими механизмами, в большей мере независимо от укорочения теломер, которое продолжается в клетках, в которых отсутствует p53 или Rb (Reddel, 1998b), хотя и с исключениями (Garcia-Cao et al., 2002). В отсутствие механизма поддержания теломер клетки, в которых отсутствуют (или мутированы) p53 или Rb, не могут делиться бесконечно (Cerni, 2000). Недостаточность репарации ДНК более часто наблюдается в клетках с дефицитом теломеразы (Artandi et al., 2000), что объясняет более высокий риск злокачественной трансформации в старых клетках. Хотя старение ограничивает репликацию в индивидуальных клетках, оно увеличивает риск злокачественного роста в окружающих клетках (Krtolica et al., 2001).

Хромосомы являются нестабильными без теломер, но подчеркивается, что повреждения и абберации более часты в теломерах, чем где бы то ни было (Bouffler, 1998). Эта «деликатность», может быть, определяет их критическую роль или комплексность поддержания теломер.

Риск такой деликатности уравнивает риск малигнизации. Поскольку клетки стареют и их вторичная патология наблюдается в пострепродук-

тивном периоде, эволюционная цена репликативного лимита является приемлемой (Westendorp, Kirkwood, 1998; Kirkwood, Austad, 2000) для вида, если не для индивидуума. Общая концепция — антагонистическая плейотропия — описывает гены, которые благоприятны у молодых, но имеют меньшую ценность в пострепродуктивном периоде. Старое тело является «отработанным» («disposable»): старение является платой за репродуктивную безопасность и является результатом необходимого эволюционного выбора, который определяет выживаемость вида (Rose, 1991). Телеологически старение является побочным эффектом механизма, который защищает от рака (Wang et al., 2000) и последующей репродуктивной недостаточности. Клеточное старение предотвращает злокачественный рост, ограничивая клеточные деления. По образному выражению J. Campisi (1997), «обоюдоострый меч клеточного старения» осуществляет эволюционный баланс ресурсов между старением и раком.

Роль теломеразы в раке неоднозначна. Скорее, она играет множественные, комплексные роли, даже независимо от длины теломер (Stewart, Weinberg, 2002). Хотя клеточное старение лимитирует деление, оно парадоксально способствует канцерогенезу, нарушая стабильность генома. Клеточное старение увеличивает нестабильность (Artandi, DePinho, 2000) и уменьшает иммунный надзор (Pawelec et al., 1999), способствуя малигнизации. Роль теломер в стабильности хромосом предполагает, что теломераза защищает от канцерогенеза особенно на ранних стадиях канцерогенеза, когда генетическая стабильность является критической (Rudolph et al., 2001). Роль теломеразы зависит от стадии малигнизации так же, как от кофакторов; экспрессия является поздней и перmissive, но не причинной.

Экспрессия теломеразы и особенно длина теломер могут защищать от злокачественной трансформации в быстро делящихся клетках при миелодиспластическом синдроме, например, поддерживая стабильность генома. Трансгенные инсерции экзогенного hTERT также защищают от злокачественной трансформации и генетической нестабильности (Morales et al., 1999). В комбинации с онкогенами (SV-40 большой Т онкобелок или аллель H-ras), однако, эктопическая экспрессия hTERT может трансформировать человеческие фибробласты и эпителиальные клетки (Hahn et al., 1999). Как и в других случаях, hTERT является необходимой, но не достаточной.

Экспрессия hTERT не определяет возникновения рака абсолютно, хотя hTERT присутствует в большинстве человеческих опухолей и эффективно способствует созданию бессмертных человеческих клеточных линий (Hahn et al., 1999). Существуют исключения из правила, что опухоли и иммортализованные клетки демонстрируют активность hTERT (Wright, Shay, 2000). В некоторых иммортализованных человеческих клетках еще сохраняются стабильные теломеры (Bryan et al., 1997). В клетках рака толстой кишки, сарком и крысиного рака мочевого пузыря активность теломеразы минимально коррелирует с длиной теломер. Хотя длинные теломеры или высокая активность могут быть достаточными, исключительно длинные те-

ломеры могут быть вредными в быстро делящихся клетках. Давление отбора может способствовать стабильным теломерам вне зависимости от их длины (Shay et al., 1995).

### 11.12. РОЛЬ СТРОМАЛЬНОЙ ТКАНИ В ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

Взаимодействие между мезенхимой и эпителием — ведущий фактор дифференцировки и развития (Liotta, Kohn, 2001). Установлено, что изменения в поведении стромы могут оказывать промотирующее влияние на опухолевую трансформацию эпителиальных клеток и канцерогенез (Krtolica et al., 2001). К специфическим медиаторам возрастных изменений во взаимоотношениях клеток стромы и эпителия относят интерлейкин-1, трансформирующий фактор роста  $\beta$ , ростовые факторы кератиноцитов и гепатоцитов, фактор, происходящий из клона 1 пигментного эпителия на ранних стадиях удвоения (PEDF/EPС-1), принадлежащего к семейству ингибиторов сериновых протеаз (Rinehardt, Torti, 1997).

Хорошо известно, что опухоли представляют собой комплекс тканей. Генетически измененные раковые клетки представляют собой лишь один компонент большинства эпителиальных опухолей, тогда как другой, стромальный, компонент, включающий клетки мезенхимального происхождения, играет важную роль в росте опухоли (Hanahan, Weinberg, 2002). В опухоли часто встречаются также многие типы воспалительных клеток, что позволяет предполагать связь между опухолевым ростом и воспалением (Cussens, Werb, 2002). Более того, усматривается сходство между клеточными популяциями и активностями, связанными с нормальным заживлением ран и наблюдаемыми при опухолевом росте (Pegou et al., 2002). В своем обзоре D. Hanahan и R. A. Weinberg (2000) подчеркивали, что значение стромы может быть очень велико для роста опухоли, и предположили, что в некоторых опухолях эти кооперирующиеся клетки могут в конечном счете утрачивать нормальные характеристики, ко-эволюционируя со своими злокачественными «соседями» и способствуя их росту.

Изучение профиля экспрессии генов в солидных опухолях хорошо иллюстрирует детали комплексности опухоли и отличия неэпителиальных стромальных клеток, которые она содержит. В наиболее ранних исследованиях было показано, что в стромальных и воспалительных клетках опухолей представлен генетический профиль, свойственный заживлению ран и ангиогенезу. В этих и последующих работах было получено большое количество данных, которые привели к трем заключениям (Pelham et al., 2006).

Во-первых, каждый анатомический тип рака ассоциирован с распознаваемым паттерном экспрессии, обычно весьма сходным с паттерном нормальной ткани; некоторые типы (например, рак молочной железы) можно подразделить на несколько подгрупп (Sorlie et al., 2003). Во-вторых, внутри

раковых подтипов опухоль каждого индивидуума сохраняет отличия в паттерне генетической экспрессии. Эти паттерны представляют собой сумму генетической экспрессии в малигнизированных и стромальных клетках, составляющих опухоль. В-третьих, профили экспрессии отдаленных метастазов имеют тенденцию быть даже более сходными с первичной опухолью, чем первичные опухоли одного и того же субтипа между собой.

Таким образом, даже отдаленные метастазы, возможно, начавшиеся с одной мигрировавшей раковой клетки, каким-то образом становятся организованными подобно первичной опухоли, придавая популяции стромальных и воспалительных клеток черты, сходные с наблюдаемыми в первичной опухоли. Полагают, что детальный паттерн экспрессии генов весьма характерен, даже уникален для каждой независимо возникшей раковой клетки, тогда как общий паттерн свойственен тому или иному подтипу опухолей. Интересным в этом контексте является наблюдение, что в случае гепатоцеллюлярного рака, когда один пациент имел более чем одну независимо возникшую опухоль, так же как и метастазы одной из них, только клонально связанные опухоли имели сходные профили генной экспрессии (Chen et al., 2002).

R. J. Pelham и соавт. (2006) использовали оригинальный подход к исследованию этой проблемы, трансплантировав клетки опухоли человека голым мышам, что позволило надежно отличить генетически раковые клетки человека от предположительно вовлеченных стромальных вспомогательных клеток мыши. Опухоли, которые росли в этой системе, имели опухолевые клетки, происшедшие от человека, а стромальные — от мыши. При этом ожидалось, что любые изменения в геноме стромальных клеток могут быть изменениями в мышинном, а не человеческом геноме. В качестве ксенотрансплантатов использовали различные типы опухолей человека — колоректальную карциному HCT-15, рак молочной железы MDA-MB-231 и MDA-MB-435a, которые прививали бестимусным мышам NCR nu/nu. Через 30—150 дней после перевивки опухоль иссекали и с помощью олигонуклеотидного микрочипового анализа изучали транскриптом в ДНК, выделенной из изолированных из единичных ядер клеток опухоли и стромы. Всего было изучено семь опухолей и установлено, что во всех этих опухолях изменения происходят не в одинаковых генах. Вместе с тем оказалось, что большое число стромальных клеток в каждой опухоли имело одинаковые амплификации и делеции, что позволяет предполагать общую клональную природу этих клеток, отобранных в процессе развития ксенотрансплантата опухоли человека. Кроме того, число ДНК копий человеческих гомологов генов, измененных в стромальных клетках хозяина (мыши), в родительской человеческой опухоли не было изменено.

В ряде исследований было показано, что в строме злокачественных карцином человека имеют место нарушения в экспрессии генов, утрата гетерозиготности и эпигенетические изменения (Hill et al., 2005). R. J. Pelham и соавт. (2006) не обнаружили изменений числа копий ДНК, однако вместо них нашли изменения в генах, связь которых с раком была ранее документиро-

вана, и в генах, роль которых вероятна, но нуждается в подтверждении. Причинная роль вариабельности числа ДНК копий хозяина в опухолях является весьма интересным вопросом. Возможно, что эти нарушения числа копий ДНК обусловлены избирательным давлением, оказываемым на строму опухолью, создающим про-онкогенное микроокружение. Напротив, оно может представлять селекцию хозяином мутантных клеток стромы, предназначенных для подавления опухолевой прогрессии. Наконец, возможно, что полученные данные случайны, и поскольку в течение процесса стромальной пролиферации ответ часто клональный, авторы, применившие очень чувствительные методы, просто выявили предсуществующие соматические мутации. Полагают, что большая часть обнаруженных нарушений (как изменение числа копий ДНК, так и экспрессии генов) в опухолях человека может быть обусловлена влиянием геномных изменений в ассоциированной с опухолью стромальной ткани.

Несомненно, что возрастные изменения в стромальных клетках могут существенно модифицировать процесс канцерогенеза.

### 11.13. ВЛИЯНИЕ СТАРЫХ КЛЕТОК НА РАЗВИТИЕ ОПУХОЛЕЙ

Недавно было показано, что старые фибробласты человека стимулируют *in vitro* пролиферацию предраковых и злокачественных, но не нормальных эпителиальных клеток, которые способны образовывать опухоли при прививке голым мышам (Krtolica et al., 2001; Dilley et al., 2003). В фибробластах, находившихся на более ранних пассажах (пресенильных), эта способность была менее выражена, чем у старых клеток.

Фенотип стареющих фибробластов, описанный выше (см. главу 5), весьма похож на так называемую «активированную строму» или ассоциированные с раком фибробласты, которые, как это было установлено, стимулируют опухолевую прогрессию в опытах как *in vitro*, так и *in vivo* (Skobe, Fusenig, 1998; Olumi et al., 1999; Shekhtar et al., 2001; Martens et al., 2003). Интересно, что фибробласты, подвергнутые облучению и похожие по некоторым характеристикам на стареющие фибробласты, также оказывают промотирующее влияние на развитие эпителиальных опухолей *in vivo* (Barcellos-Hoff, Ravani, 2000).

J. Campisi (2005) полагает, что накопление с возрастом в тканях организма стареющих клеток, особенно стареющих стромальных клеток, может синергично с возрастным накоплением мутаций способствовать развитию эпителиальных злокачественных опухолей («хорошие граждане, но плохие соседи»). Ирония природы заключается в том, что механизм, который в молодом возрасте эффективно защищает от развития опухолей (клеточное старение), является фактором их возникновения в старших возрастах (Campisi, 2003, 2005).

В какой-то мере этим наблюдениям *in vitro* соответствуют результаты некоторых опытов с эпителиальными опухолями, перевиваемыми подкож-

но животным разного возраста (см. табл. 11.12). Так, не наблюдалось различия в скорости роста перевиваемого плоскоклеточного рака шейки матки SCC мышам в возрасте 3 и 12 месяцев, однако у 18-месячных самок мышей эта опухоль росла значительно быстрее, чем у 3-месячных (Анисимов, Жуковская, 1981). Однако некоторые перевиваемые эпителиальные опухоли (меланома В16, спонтанная карцинома молочной железы, карцинома Уокера-256, гепатома Новикова) у старых реципиентов росли медленней, чем у молодых. Старый возраст оказывал промотирующее влияние на рост *in vivo* большинства перевиваемых сарком (Anisimov, 1987, 2006).

Было также отмечено, что молодые (т. е. прошедшие менее 30 % своей репликативной жизни) стромальные клетки эндометрия, полученные от взрослых женщин, угнетают ассоциированные со злокачественностью свойства к независимой от подложки пролиферации клеток рака эндометрия человека, тогда как старые стромальные клетки (прошедшие более 90 % их репликативной жизни) теряли такую способность (Rinehart, Torti, 1997).

Следует подчеркнуть, что старение не является обязательным последствием пролиферации в культуре. Так, шванновские клетки крысы способны неограниченно пролиферировать *in vitro*, тогда как фибробласты, выделенные из тех же нервов, подвергаются классическому репликативному старению, свойственному фибробластам грызунов (Mathon et al., 2001). Было установлено, что эндотелиальные клетки пупочной вены останавливаются в фазе G1 клеточного цикла, но, в отличие от фибробластов, подвержены возрастной тетраплоидизации и апоптотической клеточной гибели, существенно отличаясь этим от резистентных к апоптозу фибробластов (Hampel et al., 2002). Некоторые другие нормальные клетки-предшественники грызунов (например, олигодендроциты) обладают неограниченной способностью пролиферировать в культурах, из которых устранены факторы, ответственные за дифференцировку и запуск блокады клеточного цикла (Tang et al., 2001).

В противоположность фибробластам, эпителиальные клетки молочной железы человека спонтанно ускользают от старения и в них развиваются генетические нарушения, которые необходимы для инициации канцерогенеза (Romanov et al., 2001). В этом исследовании на протяжении 75 пассажей были исследованы пролиферация, кариотип, длина теломер и уровень экспрессии генов *p53*, *p21* и *p14*. Клетки, пережившие процесс отбора, теряли экспрессию *p16*, что коррелирует с их ускользанием от остановки роста. Затем в течение второй фазы экспоненциального роста в клетках начали появляться хромосомные нарушения. С этими данными согласуются наблюдения, свидетельствующие о том, что в эпителиальных клетках молочной железы имеет место прогрессивное укорочение теломер. В то же время уровни белков *p53*, его модулятора *p14* и эффектора *p21* увеличивались, что свидетельствует о том, что «агонизирующие» *in vitro* клетки эпителия молочной железы (термин, предложенный для различения от одного плато при старении фибробластов) эффективно регулируются *p53*. Эти наблюдения позволяют



Таблица 11.14

Сравнение стареющих фибробластов в культуре с канцерогенезом и неоплазией (Del Monte, Statuto, 2004)

Показатели	Коннексины и межклеточные щелевые контакты	Фосфорилированные коннексины	Устойчивость к апоптозу	Ростовой потенциал
Контроль (молодые)	↑	↑	↑	↑
Старение	↓ —	↓ —	↑*	↓ —
Действие промоторов	↓ —	↓ (?)	↑ (?)	↑↑ (?)
Пренеопластические изменения	↓ —	↓ (?)	↑* (?)	↑↑
Опухоль	—	—	↑*	↑↑

Примечание. ↑ — норма; ↓ — снижение; (—) — отсутствие; ↑ — стимуляция; \* — дисрегуляция; ↑↑ — не контролируется.

предположить, что в клетках эпителия молочной железы могут спонтанно возникать нарушения генома, необходимые для возникновения раковых клеток (Clevenger, 2001).

Хотя в протоковых карциномах молочной железы и их непосредственных предшественниках активность теломеразы увеличена, до настоящего времени не получены доказательства укорочения теломер в опухолевых клетках по сравнению с нормальными (Rha et al., 1999). Полагают, что клеточное старение может не иметь места в некоторых типах эпителиальных клеток. Следует также заметить, что, несмотря на то что аргументы в пользу предположения о связи между репликативным старением клеток человека, биологией теломеры и раком человека довольно убедительны, данные о роли репликативного старения в старении человека довольно противоречивы и требуют дальнейших исследований (Wright, Shay, 2000). В ряде работ под сомнение ставится как вопрос о соответствии старения *in vivo* клеточному старению *in vitro*, так и отношение вызываемого онкогенами клеточного старения к процессу канцерогенеза (Stewart, Weinberg, 2002).

Уменьшение межклеточных взаимодействий, осуществляемых через щелевые контакты, является важной чертой опухолевых клеток (Hanahan, Weinberg, 2000; Luzzatto, 2001). Уменьшение этих взаимодействий также наблюдается в старых эндотелиальных клетках человека (Xie, Hu, 1994). Уровень мРНК коннексина 43 и соответствующего белка также снижается в этих клетках при старении *in vitro*. Неспособность старых клеток угнетать щелевые контакты в ответ на добавление эпидермального фактора роста свидетельствует о дефекте в механизме, регулирующем активность щелевых контактов в старых клетках (Xie, Hu, 1994). Полагают, что инициированные *in vivo* клетки в стареющем организме могут восстанавливать свой ростовой потенциал, что приводит в конечном счете к прогрессированию малигнизации (Del Monte, Statuto, 2004). В пользу такого предположения

свидетельствуют данные о действии коннексина 43 как опухолевого супрессора, о снижении уровня коннексина 43 и межклеточных щелевых контактов в предопухолевых тканях и новообразованиях, так же как и в стареющих клетках, об активации теломеразы в злокачественных соматических клетках (табл. 11.14) (Del Monte, Statuto, 2004). Наблюдения, что коннексин 43 является мишенью для ультрафиолетового облучения в кератиноцитах человека (Provost et al., 2003), представляет большой интерес, поскольку предполагается участие межклеточных щелевых контактов в развитии фенотипа фотостарения и эпидермального рака.

Выше уже упоминалось, что стволовые клетки не имеют никакого пролиферативного лимита *in vivo* (см. главу 5). Реально наблюдаемый феномен при старении *in vivo* — это уменьшение клеточной пролиферации, наблюдаемое в большинстве тканей лабораторных грызунов (Baserga, 1977; Anisimov, 1987; Rubin, 1997; Wynford-Thomas, 1999). При этом основным изменением является увеличение времени клеточного цикла и его вариабельности.

#### 11.14. КАНЦЕРОГЕННОЕ СТАРЕНИЕ

Поскольку ряд молекулярных и физиологических механизмов старения и канцерогенеза весьма сходен (табл. 11.15), резонно задаться вопросом: ускоряют ли канцерогены старение, и если ускоряют, то каким образом?

Вопрос о способности канцерогенов ускорять старение обсуждается много лет. Еще в 1938 г. Л. Ф. Ларионов (Ларионов, 1938) описал появление признаков ускоренного старения у мышей, подвергавшихся воздействию полициклических ароматических углеводородов. Неонатальное воздействие ДМБА укорачивало продолжительность жизни мышей и сопровождалось преждевременным прекращением эстральной функции, поседением и снижением веса тела (Ohno, Nagai, 1978). В наших опытах у самок крыс, которым вводили 20-метилхолантрен, наблюдались множественные гормонально-метаболические нарушения, включая прекращение эстральной функции, снижение толерантности к глюкозе и чувствительности к инсулину, свойственные в норме старым животным (Anisimov, 1987).

Длительная экспозиция к табачному дыму вызывала увеличенную продукцию свободных радикалов и появление признаков ускоренного старения у крыс (Teramoto et al., 1993) и людей (Morita et al., 2007). На основании анализа данных по эффектам курения у людей высказывается точка зрения, что у курильщиков наблюдаются признаки ускоренного старения, и их биологический возраст к моменту гибели больше, чем у некурящих (Bernard et al., 2007). Сокращение продолжительности жизни курильщиков обусловлено более частым и ранним развитием типичных связанных с возрастом болезней, таких как рак и сердечно-сосудистые заболевания. Подсчитано, что смола сигаретного дыма содержит более  $10^{17}$ , а летучая фаза — более  $10^{15}$  свободных радикалов/мг. Наряду с повреждением тканей свободными

Таблица 11.15

Сходство изменений, развивающихся в организме в процессе старения и при канцерогенезе (Anisimov, 1998, с дополнениями)

Показатели	Старение	Канцерогенез		
		химический	радиационный	гормональный*
<b>Системный уровень</b>				
Уровень катехоламинов в гипоталамусе	↓	↓	↓	↓
Связывание эстрогенов с рецепторами	↓	↓	↓	↓
Порог чувствительности гипоталамуса к торможению стероидами	↑	↑	↑	↑
Частота персистирующего эструса	↑	↑	↑	↑
Функция коры надпочечников	?	Дисфункция		?
Толерантность к глюкозе	↓	↓	↓	↓
Чувствительность к инсулину	↓	↓	↓	↓
Уровень инсулина в сыворотке крови	↑	↑	↓	↑
Уровень холестерина в крови	↑	↑	↑	=
Количество жира в теле	↑	↑	↑	↑
T-клеточный иммунитет	↓	↓	↓	↓
<b>Тканевой и клеточный уровень</b>				
Клональная пролиферация клеток	↑	↑	↑	↑
Апоптоз	↓	↓	↓	↓
Межклеточные контакты	↓	↓	↓	↓
Уровень ростовых факторов	↑	↑	↑	↑
Окислительный стресс	↑	↑	↑	↑
Биоэнергетика клетки	↓	↓	↓	↓
<b>Молекулярный уровень</b>				
Образование аддуктов ДНК	↑	↑	↑	↑
Эффективность репарации ДНК	↓	↓	↓	↓
«Ошибки» в синтезе ДНК	↑	↑	↑	↑
Гипометилирование ДНК	↑	↑	↑	↑
Длина теломер	↓	Не изменяется		?
Активность теломеразы	↑	↑	↑	↑
Нестабильность генома	↑	↑	↑	↑
Накопление мутаций	↑	↑	↑	↑
Частота хромосомных aberrаций	↑	↑	↑	↑
Активация онкогенов	↑	↑	↑	↑
Мутации в <i>p53</i> и <i>Rb</i>	↑	↑	↑	↑
<b>Канцерогенез</b>				
Частота злокачественных опухолей	↑	↑	↑	↑

Примечание. \* — индукция синдрома постоянного эструса.

радикалами, табачный дым поражает систему антиоксидантной защиты, снижая, в частности, содержание селена и цинка. Истощение этих систем увеличивает темп старения. Мутагены и канцерогены табачного дыма повреждают ДНК, в том числе, мтДНК, что ведет к дефектам в системе передачи кислорода и окислительному стрессу. Накопление мутаций вызывает клеточную трансформацию, а стимуляция пролиферации, вызываемая компонентами табачного дыма, оказывает промотирующий опухолевый рост эффект. Стимуляция пролиферации способствует также клеточному старению. В пользу предположения об ускорении клеточного старения под влиянием табачного дыма свидетельствует также укорочение теломер в клетках легких и лимфоцитах курильщиков по сравнению с некурящими. В фибробластах легких курильщиков отмечена повышенная экспрессия маркеров старения, включая  $\beta$ -галактозидазу. Подобные изменения могут способствовать заболеваниям легких, связанным с возрастом. Развитие атеросклероза у курильщиков стимулирует отложение в интиме сосудов кадмия, содержащегося в табачном дыме. Характерные для старения нарушения вазомоторной функции могут быть обусловлены уменьшением содержания в организме окиси азота (NO) в результате его превращения в пероксинитрит при действии супероксидных радикалов сигаретного дыма. Это является одной из причин более раннего развития у курильщиков инфаркта миокарда, инсульта, заболеваний периферических сосудов, эректильной дисфункции и сосудистой деменции. Для курильщиков также характерны более ранние возрастные нарушения эндокринной системы (менопауза из-за снижения уровня эстрогенов), снижение фертильности, остеопороз (из-за уменьшения эстрогенной функции, нарушения баланса кальция и витамина Д, окислительного стресса), старение кожи (морщины, вызванные нарушением кровоснабжения), дегенерация сетчатки глаза, цереброваскулярная дисфункция. Таким образом, курение вызывает изменения в организме, сходные с наблюдаемыми при старении. Скорее всего, это связано с общей интоксикацией организма компонентами табачного дыма, которая ведет к постепенному нарушению систем гомеостаза, происходящему и при физиологическом старении (Bernard et al., 2007; Doshi et al., 2007; Wong et al., 2007).

Показано, что экспозиция к свинцу ускоряет старение артерий у человека (Perlstein et al., 2007). Хорошо известно и довольно хорошо изучено ускорение старения при воздействии ионизирующей радиации, давшее много примеров дозовой зависимости старения и канцерогенеза (Sacher, 1977; Alexandrov, 1982; Москалев, 1991). Феномен лучевого старения описан также у дрозофил (Потапенко и др., 1998; Зайнуллин, Москалев, 2001).

Н. В. Алишевым и соавт. (2006, 2007) изучались показатели биологического возраста и темп старения у ликвидаторов последствий радиационных аварий и ветеранов подразделений особого риска (испытателей ядерного оружия, участников войсковых учений с применением атомной бомбы). Было установлено, что у ликвидаторов радиационных аварий и ветеранов указанных подразделений биологический возраст значительно превышает

Таблица 11.16

Влияние старения и канцерогенных агентов на некоторые показатели жируглеводного обмена у крыс (Anisimov, 1987)

Канцероген, способ введения	Концентрация в сыворотке крови				
	толерантность к глюкозе	инсулин	IGF-I	холестерин	триглицериды
Старение	↓	↑	↑	↑	↑
НММ внутривенно	↓	↑	↑	=	=
НММ трансплацентарно	↓	=	↑	↑	=
ДМБА внутривенно	↓	↑	↑	=	=
ДМГ подкожно	↓	↑	↑	↑	↑
ДЭС трансплацентарно	↓	↑	↑	=	↑
Рентгеновское облучение	↓	↑	↑	?	↑

Примечание: ↑ — увеличение; ↓ — уменьшение; = — без изменений; ? — нет данных.

среднепопуляционный стандарт и должный биологический возраст. Авторами также было выявлено у обследованных сочетание иммунодепрессивного и аутоагрессивного состояний, которым придают важную роль в процессах преждевременного старения организма.

Воздействие электромагнитных полей сверхнизкой частоты (50—60 Гц) и световое загрязнение, которые оказывают промотирующее рост опухолей воздействие на некоторых моделях, сопровождается ускоренным старением эндокринной и иммунной систем (Никитина, 1997; Stevens, 2005; Anisimov, 2006а, Анисимов, Виноградова, 2006; Виноградова и др., 2007).

Многочисленные данные о влиянии канцерогенов на нервную, эндокринную и иммунную системы, жируглеводный обмен и свободнорадикальные процессы, свидетельствующие об ускорении процессов старения в этих системах под их влиянием, обобщены в ряде работ (Anisimov, 1987, 2005, 2007; Dilman, 1994). Ионизирующая радиация и химические канцерогены вызывают такие же изменения во внутренней среде организма, как и развивающиеся в процессе естественного старения, но возникающие в более молодом возрасте. Из табл. 11.16 можно видеть, что при воздействии самых разнообразных канцерогенов, обладающих различным механизмом действия и вызывающих опухоли в разных органах, наблюдаются однотипные нарушения жируглеводного обмена.

В. М. Дильман (1987) образно назвал совокупность гормонально-метаболических и иммунных нарушений, развивающихся при старении («метаболическая иммунодепрессия», см. главу 7) и при воздействии канцерогенов, и способствующих канцерогенезу факторов, «канкрофилией». Следует подчеркнуть, что эти нарушения возникают задолго до обнаружения опухолей. При этом канцерогенные агенты (включая ионизирующую радиацию)

вызывают как бы быстрый сдвиг всех функций организма в «старую» сторону (Alexandrov, 1982; Anisimov, 1987). Интересное развитие этих представлений получило в работах по так называемому «про-раковому микроокружению» (Liotta, Kohn, 2001; Schwartsburd, 2004). Этот синдром включает увеличение клеточной пролиферации наряду со снижением клеточной гибели, переключение на гликолитический метаболизм, экстрацеллюлярный протеолиз, увеличенный ангиогенез и вазорелаксацию, что создает условия для достаточного снабжения клетки питанием, но ограничивает иммунный клеточный контроль (Schwartzburd, 2004).

Интенсивность спонтанных повреждений в ДНК весьма высока. В клетках человека спонтанная депуринизация имеет величину порядка 10000 событий в день на клетку, а спонтанное деаминирование происходит со скоростью несколько сотен событий в день. Естественно, что в результате в процесс вовлекаются постоянно функционирующие механизмы репарации ДНК. Таким образом, в наиболее интенсивном естественном мутационном процессе (депуринизация и деаминирование) тимин не участвует. Мутации в нем — значительно более редкое событие, поэтому системы репарации тимина функционируют менее интенсивно. Из этого следует, что для получения равномерно распределенных точечных мутаций (и одновременной минимизации повреждений в других структурах) у лабораторных животных представляется целесообразным применение в качестве мутагенов аналогов тимина. В ряде работ были представлены доказательства первичности повреждения ДНК в инициации старения, индуцируемого неонатальным введением БДУ, и приводились данные, свидетельствующие об ускорении старения у животных, подвергшихся такому воздействию (см. главу 13).

Следует подчеркнуть, что введение БДУ сопровождается также пропорциональным дозе агента увеличением частоты возникновения новообразований как у крыс, так и у мышей. Более того, неонатальное введение БДУ существенно увеличивало чувствительность к канцерогенному эффекту последующего воздействия НММ, ионизирующей радиации, эстрадиола-бензоата, синдрома персистирующего эструса и ТФА. Наши данные свидетельствуют о том, что избирательного повреждения ДНК, индуцируемого неонатальным введением БДУ, достаточно для инициации канцерогенеза и ускорения старения. Математическое моделирование процессов старения и канцерогенеза у крыс, подвергшихся воздействию БДУ и НММ, подтвердило выводы, полученные в эксперименте. В целом результаты этих наблюдений могут служить подтверждением гипотезы о зависимости между уровнем повреждения тканей при мутагенезе и окислительном стрессе и скоростью как старения, так и развития опухолей.

### 11.15. УСКОРЯЕТ ЛИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЕ СТАРЕНИЕ РАЗВИТИЕ ОПУХОЛЕЙ?

Хорошо известно, что одним из проявлений некоторых синдромов ускоренного старения (прогерии) является увеличение частоты развития злокачественных новообразований (Lehmann, 1985; Михельсон, 1996; Bohr, 2002). Три синдрома — Блюма, Вернера и Ротмунда—Томсона — характеризуются аутосомно-рецессивной нестабильностью генома, предрасположенностью к развитию рака и преждевременным старением. При этом имеют место мутации в гене, кодирующем семейство геликаз RecQ, — ферментов, ответственных за поддержание геномной интеграции (Mohaghegh, Hickson, 2001). При синдроме Вернера чаще развиваются саркомы, а не эпителиальные опухоли, составляющие подавляющее большинство новообразований у людей, не страдающих прогериями. При синдроме Блюма, редком заболевании, обусловленном мутацией в гене *BLM* и характеризующемся плейотропным фенотипом, включающим иммунодефицит, нарушенную фертильность, пропорциональную карликовость, подверженность к вызываемой солнцем эритеме, наблюдается раннее развитие многих типов опухолей (German, 1995). При синдроме Ротмунда—Томсона наряду с проявлениями частичной прогерии увеличена частота опухолей, главным образом остеогенных сарком. Наследуемая нестабильность генома является главной характеристикой, связывающей эти три генетических нарушения на клеточном уровне, проявляющихся различными хромосомными аномалиями (Mohaghegh, Hickson, 2001). У нокаутных *p53/Wrn*<sup>-</sup> мышей наблюдается ускорение канцерогенеза, что свидетельствует о генетическом взаимодействии между генами *p53* и *Wrn* (Lebel et al., 2001). В нормальных клетках человека комплекс *p53*—*WRN* может распознавать поврежденные (аномальные) структуры ДНК, ведущие к нарушению координации клеточного цикла и репарации ДНК или к индукции апоптоза (Mohaghegh, Hickson, 2001).

При прогерии детей, синдроме Хатчинсона—Гилфорда больные умирают в среднем в 12-летнем возрасте с множественными признаками ускоренного старения (Martin, 1982). Данные о частоте новообразований при этом заболевании отсутствуют. Генетические заболевания, ассоциированные с нарушениями репарации ДНК, такие как синдром Кокейна и атаксия-телангиоэктазия, рассматривают как сегментарные прогерии (Martin, 1982). Данные о частоте рака при синдроме Кокейна отсутствуют, однако при атаксии-телангиоэктазии частота злокачественных новообразований (главным образом лимфом и лимфоцитарных лейкозов) увеличена в 1200 раз по сравнению контролем того же возраста (Lehmann, 1985).

Наряду с классической прогерией и синдромами частичной прогерии некоторые заболевания сопровождаются нарушениями, которые могут рассматриваться как интенсифицированное старение. Например, при синдроме Штейна—Левенталя (синдроме склерокистозных яичников), обычно вы-

Таблица 11.17

**Методы индукции постоянного эструса у самок крыс  
(Anisimov, 1987)**

Орган-мишень	Воздействие
ЦНС	Избыточный постоянный шум
Эпифиз	Постоянное освещение (24 ч в сут.)
Гипоталамус	Электролитическое разрушение переднего или медиобазального отделов Неонатальное введение половых гормонов Введение ДЭС или тестостерона во время беременности Некоторые химические канцерогены (ДМБА, МХ и др.) Ионизирующая радиация
Яичник	Ортогипическая трансплантация Субтотальная кастрация Травма (прошивание нитью, смазывание фенолом)

являемом в период полового созревания, наблюдается двухстороннее склерокистозное увеличение яичников, связанное с утолщением белочной капсулы яичника, механически препятствующим разрыву созревшего фолликула, т. е. овуляции. В таких яичниках находят фолликулярные кисты и гиперплазию тека-ткани. У пациентов имеют место ановуляция, стерильность, гирсутизм, гиперлипидемия, снижение толерантности к глюкозе, гиперинсулинемия, ожирение, гипертония и увеличенная частота рака молочной железы и эндометрия (Dilman, 1994). У лабораторных крыс и мышей синдром постоянного эструса, который в норме завершает репродуктивный период жизни и эквивалентный климактерическому периоду у женщин, может быть индуцирован многими методами, такими как постоянное освещение, неонатальное введение половых гормонов, субтотальная кастрация, ортогипическая пересадка яичника овариоэктомированному животному, рентгеновское облучение, смазывание яичника йодом или фенолом и др. (табл. 11.17). Вне зависимости от метода индукции при синдроме постоянного эструса у крыс развиваются признаки преждевременного старения и увеличение частоты новообразований (Anisimov, 1987).

Индукция постоянного эструса у крыс, которым вводили химические канцерогены (ДМБА или НММ) или 5-бромодезоксиуридин, сопровождалась увеличением частоты опухолей по сравнению с подвергавшимися воздействию только канцерогена (Anisimov, 1987; Alexandrov et al., 1989). Эти наблюдения свидетельствуют о промотирующем влиянии интенсифицированного старения, возникающего у крыс с синдромом постоянного эструса, на канцерогенез.



## 11.16. ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, СТАРЕНИЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ

В соответствии со свободнорадикальной теорией, при различных окислительных процессах, происходящих в организме (главным образом в митохондриях), генерируются свободные радикалы, вызывающие многообразные повреждения в макромолекулах (нуклеиновых кислотах, белках и липидах), приводящие к их повреждению и старению. Эта теория объясняет не только механизм самого старения, но и возникновение многочисленных связанных с ним патологических процессов, включая рак (см. главы 2 и 4). В последние годы получено много данных, подтверждающих роль повреждений ДНК, вызванных АФК, образующимися при эндогенных стрессах, в механизмах старения и рака. Эти механизмы включают окислительное повреждение ядерной и митохондриальной ДНК и ее репарацию, укорочение теломера и связанное с ним клеточное старение (Saretzki et al., 1999; Hamilton et al., 2001; Kawanishi et al., 2001; Salvioli et al., 2001; Skulachev, 2001; von Zglinicki et al., 2000, 2001). Имеются наблюдения, что у мышей Prdx<sup>-/-</sup> с выключенным геном пероксиредоксина существенно уменьшена продолжительность жизни по сравнению с контролем дикого типа и увеличена частота развития новообразований (Neumann, Fang, 2007). Следует заметить, что свободнорадикальные процессы играют существенную роль во многих других процессах, связанных со старением и раком, которые обсуждались в этой главе, в частности в химическом и радиационном канцерогенезе (Anisimov, 2003; а также см. раздел 3.6).

## 11.17. УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И РИСК РАКА

Мудрец будет скорее избегать болезни,  
чем выбирать средства против них.

*Томас Мор*

Как уже отмечалось выше (см. раздел 11.2.3), не наблюдается положительной корреляции между продолжительностью жизни и частотой развития опухолей, выявляемых у инбредных мышей различных линий (табл. 11.3) или животных одной линии, но разных популяций (Anisimov, 1987, 2003).

Отсутствует и корреляция между видовой продолжительностью жизни и частотой рака. Так, расчеты показывают, что у человека с продолжительностью жизни 70 лет, крысы (2.5—3 года) и мыши (2 года) кумулятивная частота новообразований составляет 30 % (Anisimov, 1987). Однако при нормализации по количеству клеток в организме оказывается, что мышь более склонна к развитию опухолей, чем человек (Miller, 1991). Этот феномен склонны объяснять тем обстоятельством, что в соматических клетках мыши теломераза более экспрессирована, чем в клетках человека, чему соответст-

вует значительно бóльшая длина теломер у мыши по сравнению с человеком (Wright, Shay, 2000). Вместе с тем видовая продолжительность жизни млекопитающих хорошо коррелирует с эффективностью систем репарации ДНК (Cutler, 1991) и резистентностью их клеток к окислительному стрессу, вызываемому различными агентами (Karahi et al., 1999). Эффективность репарации алкилированного канцерогенными нитрозосоединениями в O<sup>6</sup>-положении гуанина в ДНК человека в сотни раз выше, чем у мыши, что соответствует большей резистентности человека к этим агентам (Likhachev, 1990). Показано, что имеет место высокая положительная корреляция между эффективностью репарации вызываемых канцерогеном бензо(а)пиреном повреждений в ДНК различных органов и продолжительностью жизни долгоживущих мышей линии C57BL/6 и короткоживущих мышей BALB/c (Boerrigter et al., 1995). Анализ данных по частоте рака у генетически модифицированных животных с увеличенной продолжительностью жизни (см. главу 12) свидетельствует о снижении у них частоты злокачественных новообразований.

Установлено, что ограничение калорийности питания практически на всех биологических объектах сопровождается увеличением продолжительности жизни (см. главу 14). Ключевым биологическим параметром при этом является низкий уровень инсулина и IGF-1. У нематод и плодовых мушек были выявлены мутационные изменения генов в системе передачи сигнала от инсулинового рецептора к транскрипционному фактору *daf-16*, которые ассоциированы с существенным увеличением продолжительности жизни. Все описанные мутации (*age-1*, *daf-2*, *CHICO*, *InR* и др.) находятся в генах, предшествующих *daf-16* в инсулиновом каскаде; *daf-16* является транскрипционным фактором и оказывает свое действие, связываясь в промоторных областях генов, регулируемых инсулином (*insulin-response elements*, *IRE*). Гиперинсулинемия может способствовать окислительному стрессу и тем самым независимо от гипергликемии ускорять старение и формирование ассоциированных с возрастом заболеваний, таких как сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь и рак. Гиперинсулинемия развивается вторично в связи с нарушенной способностью инсулина стимулировать метаболизм глюкозы в скелетных мышцах (резистентность к инсулину). Другой способствующий старению эффект инсулина состоит в стимуляции полиненасыщенных жирных кислот и угнетении протеосома (Facchini et al., 2000). Авторы полагают, что данные о существенном увеличении продолжительности жизни *C. elegans* с мутациями, в частности в гене *daf-2*, тормозящими передачу сигнала инсулина (Kimura et al., 1997), или увеличении продолжительности жизни при ограничении калорийности питания, снижающем уровень глюкозы и инсулина в крови и окислительный стресс (Xu, Badr, 1999), могут служить подтверждением их гипотезы. Аналогичным образом Matsumoto и соавт. (2000) связывают гипоталамические нарушения и гиперинсулинемию с ускоренным старением и нарушением регуляции репродуктивной функции, энергии и веса тела. Снижение уровня гормона роста, инсулина и IGF-1 — ведущие факторы увеличения продол-

жительности жизни у карликовых мышей Эймса (Bartke et al., 2001). Доказано, что у столетних существенно реже наблюдается резистентность к инсулину и сохранена функция  $\beta$ -клеток инсулярного аппарата, чем в более молодых возрастных группах (Paolisso et al., 2001) и снижена частота рака (Pompei et al., 2001; Bordin et al., 1999). В ряде недавних работ резистентность к инсулину и гиперинсулинемия рассматриваются как новые важные факторы в развитии рака (Gupta et al., 2002), причем указывается, что разработка лекарственных средств, восстанавливающих чувствительность к инсулину и соответственно снижающих уровень инсулина, может стать наиболее приоритетным направлением в профилактике рака (Gupta et al., 2002).

Замедление старения ограничением калорийности питания у мышей, крыс и обезьян сопровождается торможением спонтанного канцерогенеза (Weindruch, Walford, 1988), тогда как избыточный вес является фактором риска рака и ряда других ассоциированных с возрастом заболеваний (Берштейн, 2004). В основе этого эффекта, как полагают, лежит снижение оксидативного стресса, снижение концентрации глюкозы в крови и уменьшение неэнзиматического присоединения глюкозы к долгоживущим белкам, например к гемоглобину (Masoro, 2000; Ulrich, Cerami, 2001). Снижение концентрации глюкозы приводит к снижению как гликозилирования белков, так и перекисного окисления липидов. Определяющим негативный эффект гликозилирования является не собственно присоединение глюкозы к долгоживущим белкам, а происходящее вследствие этого обусловленное свободными радикалами их окислительное повреждение. Нуклеотиды и ДНК также подвергаются неэнзиматическому гликозилированию, что приводит к мутациям из-за прямого повреждения ДНК и инактивации систем репарации ошибок рекомбинации, это также вызывает повышенную ломкость хромосом. В настоящее время изучаются подходы к предупреждению влияния гликозилирования на долгоживущие белки с помощью фармакологических и генетических воздействий. Использование миметиков калорийно ограниченной диеты, повышающих чувствительность к инсулину и снижающих уровень глюкозы в организме, рассматривается как перспективное направление в современной геронтологии (Mattson et al., 2002). Длительное введение мышам и крысам антидиабетических бигуанидов приводило к замедлению старения репродуктивной системы, увеличению продолжительности жизни животных и снижению у них частоты развития новообразований (Anisimov, 2003). Применение различных геропротекторов, т. е. средств, увеличивающих продолжительность жизни, по-разному влияло на развитие новообразований, что определялось в основном типом замедления старения в популяции, подвергшейся такому воздействию (Anisimov, 2003) (см. главу 15).

Наши наблюдения свидетельствуют о том, что более «прямоугольный» характер кривых выживания ассоциирован с увеличенной скоростью развития фатальных опухолей у крыс. С другой стороны, увеличение в популяции животных доли слабых, уязвимых (frailty) особей в молодом возрасте приводит к уменьшению показателей смертности в старости и соответ-

венно уменьшению скорости развития фатальных опухолей (Anisimov, 1987, 1998). Наши данные свидетельствуют о положительной корреляции между появлением опухолей, скоростью возрастного увеличения частоты опухолей и скоростью старения самой популяции (Anisimov, 1987, 1998). К аналогичному выводу привел анализ результатов воздействия различных геропротекторов на кривые смертности мышей и крыс и кривые возникновения в этих же популяциях частоты новообразований (Anisimov, 1987, 1998). Следует отметить, что с периода начала индустриальной революции в конце XVIII века и вплоть до середины XX века в экономически развитых странах наблюдалась прогрессивная «ректангуляция» кривой Гомперца, которой соответствовало постепенное увеличение заболеваемости раком (Totter, 1980; Parkin et al., 2001). Частота всех злокачественных новообразований в США и многих других странах, включая Россию, существенно увеличивалась с 1960 по 1990 г. как у мужчин, так и у женщин, что коррелировало с увеличением продолжительности жизни. Начиная с 90-х годов прошлого века, в наиболее экономически развитых странах, таких как США, Швеция и Дания, отмечается замедление и даже снижение нарастания частоты рака (Ries et al., 2001). Следует отметить, что именно во второй половине XX века в наиболее развитых странах изменился характер траекторий смертности — ректангуляция сменилась их параллельным сдвигом, что сопровождалось уменьшением смертности в самых старших возрастах (Vaupel et al., 1998; Yashin et al., 2002). В то же время в менее экономически развитых странах, например в России, частота злокачественных новообразований продолжает увеличиваться. Очевидно, что увеличение продолжительности жизни и характера траектории смертности по типу параллельного сдвига или даже увеличения ее наклона, будет способствовать снижению частоты злокачественных новообразований.

## 11.18. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные проявления канцерогенеза у человека и животных имеют как много общего, так и некоторые различия (табл. 11.18) (Rangarajan, Weinberg, 2003; Anisimov et al., 2005; Anisimov, 2007). Частота злокачественных новообразований увеличивается с возрастом у человека и животных, однако характер возрастного распределения опухолей различен в различных органах и тканях и зависит от типа новообразования.

С возрастом чувствительность различных тканей к инициации опухолевого процесса может как уменьшаться, так и увеличиваться, однако старый возраст обычно способствует промоции и прогрессии канцерогенеза. Было установлено, что ряд общих генетических процессов (например, активация теломеразы) играет ключевую роль как в канцерогенезе, так и в процессе иммортализации (DePinho, 2000; Reddel, 2000; Kim et al., 2002; Stewart, Weinberg, 2002). Три основные гипотезы, которые, однако, не исчерпывают

Таблица 11.18

Канцерогенез у человека и животных: сходства и различия  
(Anisimov et al., 2005, с дополнениями)

Параметр	Человек	Лабораторные животные (грызуны)
Частота рака различных локализаций	Три типичных паттерна: Ускоренное увеличение Линейное увеличение и/или уменьшение с возрастом Волнообразный характер	Три типичных паттерна: Ускоренное увеличение Линейное увеличение и/или уменьшение с возрастом Волнообразный характер
Смертность от рака vs частоты рака	Смертность от рака увеличивается с возрастом медленнее, чем частота	Смертность от рака увеличивается с возрастом медленнее, чем частота
Смертность от рака в старших возрастах	Смертность от рака уменьшается в самых старших возрастах	Смертность от рака уменьшается в самых старших возрастах у некоторых линий мышей и крыс
Изменение во времени частоты рака	Увеличение общей частоты рака во 2-й половине XX в., снижение ее в 90-х годах в ряде стран	Увеличение общей частоты спонтанных опухолей у животных некоторых линий
Половые различия возрастных паттернов частоты рака	Кривые возрастной динамики частоты рака у мужчин и женщин пересекаются в период климактерия у женщин	Кривые возрастной динамики частоты опухолей у самцов и самок крыс пересекаются в период выключения эстральной функции у самок
Уменьшение скорости роста опухолей с возрастом	Обычно наблюдается у людей, некоторые опухоли растут с одинаковой скоростью у молодых и старых пациентов	Скорость роста определяется гистогенезом опухоли. Некоторые опухоли растут быстрее у молодых животных, другие — у старых
Ранняя диагностика рака	Улучшение диагностики не может полностью объяснить увеличение частоты рака	Диагностика стандартна
Спонтанная регрессия опухолей	Наблюдается крайне редко	Часто наблюдается в ряде моделей (например, при кожном канцерогенезе у мышей)
Улучшение диагностики опухолей	Новые технологии увеличивают возможности раннего выявления и частоту рака	При серийных гистологических срезах выявляется больше опухолей
Улучшение диагностики и конкурирующие причины смерти	Раннее выявление может увеличить число новых случаев рака	Классификация опухолей на «фатальные» и «случайные» повышает надежность результатов
Частота рака в разных странах	Существенные различия в частоте рака в разных странах	Частота спонтанных опухолей может существенно варьировать у животных одной линии в одной лаборатории или в разных лабораториях

Таблица 11.18 (продолжение)

Параметр	Человек	Лабораторные животные (грызуны)
Частота рака отдельных локализаций в разных странах	Частота рака отдельных локализаций в разных странах широко варьирует	Частота спонтанных опухолей отдельных локализаций может существенно варьировать у животных одной линии в одной лаборатории или в разных лабораториях
Инфекция и рак	Вирус гепатита В и <i>Helicobacter pylori</i> вызывают рак у человека	Вирус гепатита В, <i>Helicobacter pylori</i> и <i>H. hepaticus</i> вызывают рак у грызунов
Экзогенные канцерогены	Более 60 канцерогенов, включая ионизирующую радиацию и УФО, гормоны и производственные процессы, являются канцерогенными для человека	Большое число химических веществ, радиация и многие гормоны канцерогенны у грызунов. Канцерогенные для человека агенты вызывают опухоли и у грызунов
Параметры индивидуального развития и старения	Возраст менархе и климакса влияет на частоту рака у женщин	Линейные различия во времени созревания влияют на чувствительность к канцерогенам
Потребление пищи	Переедание и ожирение увеличивают частоту рака	Переедание и ожирение увеличивают частоту рака. Ограничение калорийности снижает ее
Особенности диеты	Овощи и фрукты снижают частоту рака	Многие витамины (А, С, U и др.) тормозят канцерогенез
Гормональная заместительная терапия	Увеличивает риск рака груди и эндометрия у постменопаузальных женщин	Эстрогены канцерогенны у грызунов
Антибиотики	Некоторые антибиотики увеличивают частоту рака	Они же канцерогенны для грызунов
Лекарства и пищевые добавки	Некоторые из них могут увеличивать риск рака	Некоторые из них канцерогенны у грызунов
Физическая активность	Экстремальный спорт увеличивает риск рака, умеренные нагрузки снижают его	Физический стресс промотирует канцерогенез
Электромагнитные поля низкой частоты	Отдельные доказательства увеличения частоты рака	В ряде работ выявлено увеличение риска рака
Свет ночью (постоянное освещение)	Увеличение риска рака у работающих в ночную смену	Постоянное освещение стимулирует канцерогенез
Онкогены	Множество онкогенов вовлечено в развитие рака	Множество тех же онкогенов или их гомологов вовлечено в канцерогенез
Опухолевые супрессоры	p53 и Rb являются антионкогенами у человека	p53 и Rb являются антионкогенами у грызунов
Рак и старение	Три основных паттерна возрастного увеличения частоты рака	Существуют доказательства связи рака и старения

проблему, претендуют на то, что именно они объясняют связь рака и возраста.

- Канцерогенез — это протяженный во времени процесс, поэтому его результат, а именно рак, наиболее вероятно будет выявлен у индивидуума пожилого возраста, или, другими словами, необходимо время для накопления соответствующей дозы экзогенного канцерогена.

- При старении в тканях развиваются молекулярные нарушения, аналогичные наблюдаемым первым стадиям канцерогенеза, что увеличивает чувствительность этих тканей к действию канцерогенов.

- Возрастные изменения внутренней среды организма, включая изменения пролиферативной активности и иммуностарение, способствуют возникновению и росту злокачественной опухоли.

Предполагается, что фактором, связующим старение и рак, является нестабильность теломер. Увеличение чувствительности к действию опухолевых промоторов наблюдается в пожилом возрасте как у животных, так и у человека, что предсказывается многостадийной моделью канцерогенеза. Старых животных следует включать в протоколы испытаний на канцерогенность веществ, в особенности с предполагаемой промоторной активностью. Стратегия профилактики рака должна включать не только предупреждение воздействия канцерогенных факторов окружающей среды, но также нормализацию возрастных нарушений внутренней среды организма. Воздействия, увеличивающие продолжительность жизни (генетические модификации, геропротекторы), могут либо задерживать начало старения и увеличивать при этом латентный период развития опухолей, либо снижать смертность среди долгоживущих индивидуумов, приводя к снижению риска развития рака. Наконец, некоторые такие модификации или препараты могут увеличивать выживаемость индивидуумов с относительно короткой продолжительностью жизни, что может приводить к увеличению частоты развития новообразований в популяции в целом.

### Литература

Алишев Н. В., Свистов А. С., Рыжман Н. Н. и др. Показатели биологического возраста и ускоренное старение у ликвидаторов последствий радиационных аварий // Успехи геронтол. 2006. Т. 18. С.110—124.

Алишев Н. В., Цыган В. Н., Драбкин Б. А. и др. Психоэмоциональный стресс и соматические заболевания у ветеранов подразделений особого риска // Успехи геронтол. 2008. Т. 21. № 2. С. 108—123.

Анисимов В. Н. Спонтанные опухоли у крыс различных линий // Вопр. онкол. 1976. № 8. С. 98—110.

Анисимов В. Н. Возрастные изменения чувствительности к канцерогенам и профилактика рака // Вестн. АМН СССР. 1989. № 8. С. 84—92.

Анисимов В. Н. Канцерогенез и онтогенез: основные направления и результаты исследований // Вопр. онкол. 1997. Т. 43. С. 88—94.

Анисимов В. Н. Старение и канцерогенез // Успехи геронтол. 2002. Т. 10. С. 99—125.

Анисимов В. Н. «Игра в бисер» для биологов или наука послезавтра? // Биохимия. 2003. Т. 68. С. 292—298.

- Анисимов В. Н., Виноградова И. А. Световой режим, мелатонин и риск развития рака // *Вопр. онкол.*, 2006. Т. 53, № 5. С. 491—498.
- Анисимов В. Н., Жуковская Н. В. Влияние возраста на рост перевиваемых опухолей у мышей // *Вопр. онкол.* 1981. Т. 27, № 8. С. 52—59.
- Берштейн Л. М. Гормоны, возраст, старение и рак // *Рак у пожилых / Под ред. В. Н. Анисимова, В. М. Моисеенко, К. П. Хансона.* СПб.: Изд-во «Н-Л», 2004. С. 108—134.
- Виноградова И. А., Букалев А. В., Забежинский М. А. и др. Влияние светового режима на развитие спонтанных опухолей у самок крыс // *Вопр. онкол.* 2007. Т. 53, № 5. С. 554—561.
- Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С. Биология продолжительности жизни. Количественные аспекты (2-е изд.). М.: Наука, 1991. 280 с.
- Дильман В. М. Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.
- Забежинский М. А., Суховольский О. К., Анисимов В. Н. и др. Спонтанные опухоли у домашних животных // *Вопр. онкол.* 1993. Т. 39, № 7. С. 259—268.
- Зайнуллин В. Г., Москалев А. А. Радиоиндуцированное изменение продолжительности жизни лабораторных линий *Drosophila melanogaster* // *Генетика.* 2001. Т. 37. С. 1304—1306.
- Имянитов Е. Н. Геронтологические аспекты молекулярной онкологии // *Успехи геронтол.* 1999. Т. 3. С. 111—115.
- Имянитов Е. Н., Хансон К. П. Молекулярная онкология: клинические аспекты. СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2007. 211 с.
- Ларионов Л. В. Рак и эндокринная система. Л.: Медицина, 1938. 156 с.
- Манских В. Н. Очерки эволюционной онкологии / Под. ред. В. М. Перельмутера. Томск: СибГМУ, 2004. 172 с.
- Михельсон В. М. Наследственное преждевременное старение человека // *Клин. геронтол.* 1996. № 4. С. 4—10.
- Москалев Ю. И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. М.: Медицина, 1991. 464 с.
- Напалков Н. П. Рак и демографический переход // *Вопр. онкол.* 2004. Т. 50, № 2. С. 127—144.
- Напалков Н. П., Анисимов В. Н., Князев П. Г., Лихачев А. Я. Современные представления о механизмах канцерогенеза. Серия: обзоры по важнейшим проблемам медицины. Вып. 57. М.: ВНИИМИ. 1987. 84 с.
- Никитина В. Н. О взаимосвязи раннего старения организма с воздействием электромагнитных излучений // *Клинич. геронтол.* 1997. № 3. С. 14—18.
- Пальцев М. А., Демура С. А., Коган Е. А. и др. Роль Bcl-2, Вах и Вак в спонтанном апоптозе и пролиферации в нейроэндокринных опухолях легких: иммуногистохимическое исследование // *Бюл. exper. биол. мед.* 2000. Т. 130. С. 697—700.
- Потапенко А. И., Рудаковская Е. Г., Акифьев А. П. Экспериментальный подход к анализу клеточного и молекулярного субстрата старения: влияние 5-бром-2'-дезоксигуанидина на продолжительность жизни и поведение *D. melanogaster* // *Онтогенез.* 1998. Т. 28. С. 680—686.
- Рак у пожилых / Под ред. В. Н. Анисимова, В. М. Моисеенко, К. П. Хансона, СПб.: Изд-во «Н-Л», 2004. 336 с.
- Розенфельд С. В. Спонтанный мутагенез у мышей разных линий // *Успехи геронтол.* 2001. Т. 8. С. 44—49.
- Турусов В. С., Парфенов Ю. Д. Методы выявления и регламентирования химических канцерогенов. М.: Медицина, 1986. 152 с.
- Феоктистова С. С. Возрастные особенности развития и течения злокачественных опухолей яичников (клиническое исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1976.
- Хансон К. П. Роль апоптоза в старении и возрастной патологии // *Успехи геронтол.* 1999. Т. 3. С. 103—110.
- Худолей В. В. Сравнительный анализ опухолевого роста // *Журн. общ. биологии.* 1976. Т. 37, № 2. С. 242—254.
- Худолей В. В. Нерешенные вопросы и перспективы сравнительной онкологии // *Вопр. онкол.* 1992. С. 1345—1355.
- Худолей В. В. Эволюция, экология и рак // *Эксперим. онкол.* 1993. Т. 15, № 2. С. 3—8.



- Adelman R. C.* Definition of biological aging // Second Conference on the Epidemiology of Aging / Eds S. G. Haynes, M. Feinleib. Washington, DC: National Institute of Health; 1980. P. 9—13. NIH Publication 80—969.
- Alexandrov S. N.* Late Radiation Pathology of Mammals. Fortschritte der Onkologie. Bd 6. Berlin: Akademik-Verlag, 1982. 156 p.
- Alexandrov V. A., Popovich I. G., Anisimov V. N., Napalkov N. P.* Influence of hormonal disturbances on transplacental and multigeneration carcinogenesis // IARC Sci. Publ. N 96. 1989. P. 35—50.
- Ames B. N., Shigenaga M. K., Hogen T. M.* Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. Vol. 90. P. 7915—7921.
- Anisimov V. N.* Carcinogenesis and aging // Adv. Cancer Res. 1983. Vol. 40. P. 365—424.
- Anisimov V. N.* Carcinogenesis and Aging. Vol. 1 & 2. Boca Raton: CRC Press, 1987. 165 p; 148 p.
- Anisimov V. N.* Effect of age on dose-response relationship in carcinogenesis induced by single administration of N-nitrosomethylurea in female rats // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1988. Vol. 114. P. 628—635.
- Anisimov V. N.* Age and dose-dependent carcinogenic effects of N-nitroso-methylurea administered intraperitoneally in a single dose to young and adult female mice // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1993. Vol. 119. P. 657—664.
- Anisimov V. N.* Age as a risk factor in multistage carcinogenesis // Comprehensive Geriatric Oncology / Eds L. Balducci, G. H. Lyman, W. B. Ershler. Amsterdam: Harwood Acad. Publ. 1998. P. 157—178.
- Anisimov V. N.* Ageing and the mechanisms of carcinogenesis: some practical implications // J. Exp. Clin. Cancer Res. 1998a. Vol. 17. P. 264—268.
- Anisimov V. N.* The relationship between aging and carcinogenesis: a critical appraisal // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2003. Vol. 45. P. 277—304.
- Anisimov V. N.* Age as a risk factor in multistage carcinogenesis // Comprehensive Geriatric Oncology. 2<sup>nd</sup> ed. / Eds. L. Balducci, G. H. Lyman, W. B. Ershler, M. Extermann. London & New York: Taylor & Francis Group, 2004. P. 75—101.
- Anisimov V. N.* Biological interactions of aging and carcinogenesis // Cancer Treat. Res. 2005. Vol. 124. P. 17—50.
- Anisimov V. N.* Effect of host age on tumor growth rate in rodents // Front. Biosci. 2006. Vol. 11. P. 412—422.
- Anisimov V. N.* Light pollution, reproductive function and cancer risk // Neuro Endocrinol. Lett. 2006a. Vol. 27. P. 35—52.
- Anisimov V. N.* Biology of aging and cancer // Cancer Control. 2007. Vol. 14. P. 23—31.
- Anisimov V. N., Gvardina O. E.* N-nitrosomethylurea-induced carcinogenesis in the progeny of male rats of different ages // Mutat. Res. 1995. Vol. 316. P. 139—145.
- Anisimov V. N., Birnbaum L. S., Butenko G. M. et al.* Principles for Evaluating Chemical Effects on the Aged Population. Environmental Health Criteria 144. Geneva: WHO, 1993. 159 p.
- Anisimov V. N., Ukraintseva S. V., Yashin A. I.* Cancer in rodents: does it tell us about cancer in humans? // Nat. Rev. Cancer. 2005. Vol. 5. P. 807—819.
- Anisimov V. N., Zhukovskaya N. V., Loktionov, A. S. et al.* Influence of host age on lung colony forming capacity of injected rat rhabdomyosarcoma cells // Cancer Lett. 1988. Vol. 40. P. 77—82.
- Artandi S. E., Chang S., Lee L. et al.* Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice // Nature. 2000. Vol. 40. P. 641—645.
- Artandi S. E., DePinho R. A.* Mice without telomerase: what can they teach us about human cancer? // Nature Medicine. 2000. Vol. 6. P. 852—855.
- Backman V., Wallace M. B., Perelman L. T. et al.* Detection of preinvasive cancer cells // Nature. 2000. Vol. 406. P. 35—36.
- Balmain A., Gray J., Ponder B.* The genetics and genomics of cancer // Nature Genet. 2003. Vol. 33. P. 238—244.
- Barcellos-Hoff M. N., Ravani S. A.* Irradiated mammary gland stroma promotes the expression of tumorigenic potential by unirradiated epithelial cells // Cancer Res. 2000. Vol. 60. P. 1254—1260.

- Bartke A., Turyn D.* Mechanisms of prolonged longevity: mutants, knock-outs, and caloric restriction // *J. Anti-Aging Med.* 2001. Vol. 4. P. 197—203.
- Baserga R. L.* Cell division and cell cycle // *Handbook of the Biology of Aging* / Eds C. E. Finch, L. Hayflick. N. Y.: Van Nostrand Reinhold. 1977. P. 101—121.
- Battalora M. St. J., Spadling J. W., Szczesniak C. J. et al.* Age-dependent skin tumorigenesis and transgene expression in the Tg. AC (v-Ha-ras) transgenic mice // *Carcinogenesis*. 2001. Vol. 22. P. 651—659.
- Belitsky G. A., Budunova I. V.* Unscheduled DNA synthesis in carcinogen-treated human and mouse liver cells and fibroblasts // *IARC Sci. Publ.* 1983. N 51. P. 123—133.
- Bernhard D., Moser C., Backovic A., Wick G.* Cigarette smoke — an aging accelerator? // *Exp. Gerontol.* 2007. Vol. 42. P. 160—165.
- Bielas J. H., Heddle J. A.* Proliferation is necessary for both repair and mutation in transgenic mouse cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 11391—11396.
- Blasco M. A., Lee H. W., Hande M. P. et al.* Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA // *Cell.* 1997. Vol. 91. P. 25—34.
- Bodyak N. D., Nekhaeva E., Wei J. Y., Khrapko K.* Quantitation and sequencing of somatic deleted mtDNA in single cells: evidence for partially duplicated mtDNA in aged human tissues // *Human Mol. Genetics*. 2001. Vol. 10. P. 17—24.
- Boerrieger M. E. T. I., Wei J. Y., Vijg J.* Induction and repair of benzo[a]pyrene-DNA adducts in C57BL/6 and BALB/c mice: association with aging and longevity // *Mech. Ageing Dev.* 1995. Vol. 82. P. 3150.
- Bogovski P., Bogovski S.* Animal species in which N-nitroso compounds induce cancer // *Int. J. Cancer.* 1981. Vol. 27. P. 471—474.
- Bouffler S. D.* Involvement of telomeric sequences in chromosomal aberrations // *Mutat Res.* 1998. Vol. 404. P. 199—204.
- Bohr V. A.* Human premature aging syndromes and genomic instability // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 987—993.
- Bordin P., Da Gol P. G., Peruzzo P. et al.* Causes of death and clinical diagnostic error in extreme aged hospitalized people: a retrospective clinical-necropsy survey // *J. Gerontol. Med. Sci.* 1999. Vol. 54A. P. M554—M559.
- Brenner H., Hoffmeister M., Stegmaier C. et al.* Risk of progression of advanced adenomas to colorectal cancer by age and sex: estimates based on 840,149 screening colonoscopies // *Gut.* 2007. Vol. 56. P. 1585—1589.
- Bringold F., Serrano M.* Tumor suppressors and oncogenes in cellular senescence // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 317—329.
- Bryan T. M., Englezou A., Gupta J. et al.* Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity // *EMBO J.* 1995. Vol. 14. P. 4240—4248.
- Bryan T. M., Englezou A., Dalla-Pozza L. et al.* Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines // *Nat. Med.* 1997. Vol. 3. P. 1271—1274.
- Burek J. D., Zurcher C., Hollander C. F.* High incidence of spontaneous cervical and vaginal tumors in an inbred strain of Brown Norway rats (BN/Bi) // *J. Natl. Cancer Inst.* 1976. Vol. 57. P. 549—554.
- Burek J. D.* Pathology of Aging Rats. West Palm Beach, FL.: CRC Press, 1978. 230 p.
- Cairns J.* Aging and cancer as genetic phenomena // *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 1982. Vol. 60. P. 237—239.
- Campisi J.*, 1997. Aging and cancer: The double-edged sword or replicative senescence // *J. Am. Geriatr. Soc.* 1997. Vol. 45. P. 1—6.
- Campisi J.* Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes // *Exp. Gerontol.* 2003. Vol. 38. P. 5—11.
- Campisi J.* Aging, tumor suppression and cancer: high wire-act! // *Mech. Ageing Dev.* 2005. Vol. 126. P. 51—58.
- Campisi J.* Aging and cancer biology. *Aging Cell.* 2007. Vol. 6. P. 261—263.
- Campisi J., Kim S., Lim C. S., Rubio M.* Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 1619—1637.

- Campisi J., d'Adda di Fagagna F.* Cellular senescence: when bad things happen to good cells // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007. Vol. 8. P. 729—740.
- Catania J., Fairweather D. S.* DNA methylation, and cellular aging // *Mutat. Res.* 1991. Vol. 256. P. 283—293.
- Cerni C.* Telomere, telomerase, and myc. An update // *Mutat. Res.* 2000. Vol. 462. P. 31—47.
- Chen X., Cheung S. T., So S. et al.* Gene expression patterns in human liver cancers // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. P. 1929—1939.
- Chin L., Artandi S. E., Shen Q. et al.* p53 deficiency rescues the adverse effects of telomere loss and cooperates with telomere dysfunction to accelerate carcinogenesis // *Cell.* 1999. Vol. 97. P. 527—538.
- Chiu C. P., Dragowska W., Kim N. W. et al.* Differential expression of telomerase activity in hematopoietic progenitors from adult human bone marrow // *Stem Cells.* 1996. Vol. 14. P. 239—248.
- Chow M., Rubin H.* Clonal selection versus genetic instability as the driving force in neoplastic transformation // *Cancer Res.* 2000. Vol. 60. P. 6510—6518.
- Clevenger C. V.* A old epithelial cell never dies, it just agonesces away // *Trends Endocrinol. Metab.* 2001. Vol. 12. P. 183—184.
- Collier I. E., Papp D. M., Regan J. D.* DNA repair in a congenic pair of mice with different logevities // *Mech. Ageing Dev.* 1982. Vol. 19. P. 141—146.
- Counter C. M., Gupta J., Harley C. B. et al.* Telomerase activity in normal leukocytes and in hematologic malignancies // *Blood.* 1995. Vol. 85. P. 2315—2320.
- Coussens L. M., Werb Z.* Inflammation and cancer // *Nature.* 2002. Vol. 420. P. 860—867.
- Crowley C., Curtis H. J.* The development of somatic mutations in mice with age // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1963. Vol. 49. P. 625—628.
- Culter R.* Evolutionary biology of senescence // *Biology of Aging / Eds J. Behnke, C. E. Finch, G. Moment.* N. Y.: Plenum Press, 1978. P. 311—350.
- Cutler R. G.* Evolution of human longevity: A critical overview // *Mech. Ageing Dev.* 1979. Vol. 9. P. 337—354.
- Cutler R.* Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991. Vol. 621. P. 1—28.
- D'Errico M., Calcagnile A. S., Corona R. et al.* p53 mutations and chromosome instability in basal cell carcinomas developed at an early or late age // *Cancer Res.* 1997. Vol. 57. P. 747—752.
- Daniel F. B., Schut H. A., Sandwisch D. W. et al.* Interspecies comparisons of benzo(a)pyrene metabolism and DNA-adduct formation in cultured human and animal bladder and tracheobronchial tissues // *Cancer Res.* 1983. Vol. 43. P. 4723—4729.
- De Grey A. D.* The reductive hotspot hypothesis: an update // *Arch. Biochem. Biophys.* 2000. Vol. 373. P. 295—301.
- De Lange T., DePinho R. A.* Unlimited mileage from telomerase? // *Science.* 1999. Vol. 283. P. 947—949.
- Del Monte U., Statuto M.* Drop of connexins: a possible link between aging and cancer? // *Exp. Gerontol.* 2004. Vol. 39. P. 273—275.
- DePinho R. A.* The age of cancer // *Nature.* 2000. Vol. 408. P. 248—254.
- Dilley T. K., Bowden G. T., Chen Q. M.* Novel mechanisms of sublethal oxidant toxicity: induction of premature senescence in human fibroblasts confers tumor promoter activity // *Exp. Cell Res.* 2003. Vol. 290. P. 38—48.
- Dilman V. M.* Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention Strategy. Chur: Harwood Academic Publ., 1994. 387 p.
- Dix D.* On the role of gene relative to the environment in carcinogenesis // *Mech. Ageing Dev.* 2003. Vol. 124. P. 323—332.
- Dix D., Cohen P.* On the role of aging in carcinogenesis // *Anticancer Res.* 1999. Vol. 19. P. 723—726.
- Dix D., Cohen P., Flannery J.* On the role of aging in cancer incidence // *J. Theor. Biol.* 1980. Vol. 83. P. 163—173.
- Dockerty J. D., Draper G., Vincent T. et al.* Case-control study of parental age, party and socio-economic level in relation to childhood cancers // *Int. J. Epidemiol.* 2001. Vol. 30. P. 1438—1439.

- Doll R.* An epidemiological perspective of the biology of cancer // *Cancer Res.* 1978. Vol. 38. P. 3573—3583.
- Doll R., Peto R.* The causes of cancer // *J. Natl. Cancer Inst.* 1981. Vol. 66. P. 1193—1312.
- Dolle M. E., Snyder W. K., Dunson D. B., Vijg J.* Mutational fingerprints of aging // *Nucleic Acids Res.* 2002. Vol. 30. P. 545—549.
- Dolle M. E. T., Snyder W. K., Gossen J. A. et al.* Distinct spectra of somatic mutations accumulated with age in mouse heart and small intestine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 8403—8408.
- Doshi D. N., Hanneman K. K., Cooper K. D.* Smoking and skin aging in identical twins // *Arch. Dermatol.* 2007. Vol. 143. P. 1643—1546.
- Druckrey H.* Quantitative aspects in chemical carcinogenesis // *UICC Monogr. Ser.* 1967. Vol. 7. P. 60—77.
- Du M. Q., Carmichael P. L., Phillips D. H.* Induction of activated mutations in the human c-Ha-ras proto-oncogene by oxygen free radicals // *Mol. Carcinogenesis.* 1994. Vol. 11. P. 170—175.
- Ebbesen P.* Papilloma development on young and senescent mouse skin treated with 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate // *Age-Related Factors in Carcinogenesis* / Eds A. J. Likhachev, V. N. Anisimov, R. Montesano. (IARC Sci. Publ. N 58). IARC: Lyon. 1985. P. 167—170.
- Ebbesen P.* Reticulosarcoma and amyloid development in BALB/c mice inoculated with syngeneic cells from young and old donors // *J. Natl. Cancer. Inst.* 1971. Vol. 47. P. 1241—1245.
- Eiben R.* Frequency and time trends of spontaneous tumors found in B6C3F1 mice oncogenicity studies over 10 years // *Exp. Toxicol. Pathol.* 2001, Vol. 53. P. 399—408.
- Elmore L. W., Turner K. C., Gollahon L. S. et al.* Telomerase protects cancer-prone human cells from chromosomal instability and spontaneous immortalization // *Cancer Biol. Ther.* 2002. Vol. 1. P. 391—397.
- Ershler W. B.* Explanations for reduced tumor proliferative capacity with age // *Exp. Gerontol.* 1992. Vol. 27. P. 551—558.
- Evan G., Littlewood T.* A matter of life and cell death // *Science.* 1998. Vol. 281. P. 1317—1322.
- Facchini F. S., Hua N. W., Reaven G. M., Stoohs R. A.* Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? // *Free Radical Biol. Med.* 2000. Vol. 29. P. 1302—1306.
- Finkel T., Serrano M., Blasco M. A.* The common biology of cancer and ageing // *Nature.* 2007. Vol. 448. P. 767—774.
- Fraga C. G., Shigenaga M. K., Park J.-W. et al.* Oxidative damage to DNA during aging 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. Vol. 87. P. 4533—4537.
- Francis A. A., Lee W. H., Regan J. D.* The relationship of DNA excision repair of ultraviolet-induced lesions to the maximum life span of mammals // *Mech. Ageing Dev.* 1981. Vol. 16. P. 181—189.
- Fry M., Loeb L. A., Martin G. M.* On the activity and fidelity of chromatin-associated hepatic DNA polymerase- $\beta$  in aging murine species of difere life span // *J. Cell Physiol.* 1981. Vol. 106. P. 435—444.
- Garcia-Cao I., Garcia-Cao M., Martin-Caballero J. et al.* 'Super p53' mice exhibit enhanced DNA damage response, are tumor resistant and age normally // *EMBO J.* 2002. Vol. 21. P. 6225—6235.
- German J.* Bloom's syndrome // *Dermatol. Clin.* 1995. Vol. 13. P. 7—18.
- Geschickter C. F., Byrnes E. W.* Factor influencing the development and time of appearance of mammary cancer in the rat in response to estrogen // *Arch. Pathol.* 1942. Vol. 33. P. 334—342.
- Green D. R., Evan G. I.* A matter of life and death // *Cancer Cell.* 2002. Vol. 1. P. 19—30.
- Gupta K., Krishnaswamy G., Karnad A., Peiris A. N.* Insulin: a novel factor in carcinogenesis // *Am. J. Med. Sci.* 2002. Vol. 323. P. 140—145.
- Hahn W. C., Counter C. M., Lundberg A. S. et al.* Creation of human tumour cells with defined genetic elements // *Nature.* 1999. Vol. 400. P. 464—468.
- Hamilton M. L., Van Remmen H., Drake J. A. et al.* Does oxidative damage to DNA increase with age? // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. Vol. 98. P. 10469—10474.

- Hampel B., Unterluggauer H., Jansen-Durr P., Erdel M. Age-related polyploidization and cell death in senescent human epithelial cells // First Conference on Functional Genomics of Aging. April 24—27, 2002. Seville, Spain, 2002. P. 41.
- Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer // *Cell*. 2000. Vol. 100. P. 57—70.
- Harley C. B. Telomerase is not an oncogene // *Oncogene*. 2002. Vol. 21. P. 494—502.
- Harley C. B., Kim N. W., Prowse K. R. *et al.* Telomerase, cell immortality, and cancer // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1994. Vol. 59. P. 307—315.
- Harman D. Extending functional life span // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 95—112.
- Harris G., Lawley P. D., Olsen I. Mode of action of methylating carcinogens: comparative studies of murine and human cells // *Carcinogenesis*. 1981. Vol. 2. P. 403—411.
- Harley J. R., Pedersen N. L., McClearn G. E. *et al.* Age differences in genetic and environmental influences for health from the Swedish Adoption/Twin Study of aging // *J. Gerontol.* 1992. Vol. 47. P. 213—220.
- Hart R. W., Sacher G. A., Hoskins T. L. DNA repair in short- and long-lived rodent species // *J. Gerontol.* 1979. Vol. 34. P. 808—817.
- Hart R. W., Setlow R. B. Correlation between deoxyribonucleic acid excision-repair and life span in a number of mammalian species // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1974. Vol. 71. P. 2169—2173.
- Harvey M., Vogel H., Lee E. Y. *et al.* Mice deficient in both p53 and Rb develop tumors primarily of endocrine origin // *Cancer Res.* 1995. Vol. 55. P. 1146—1151.
- Hayflick L., Moorhead P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains // *Exp. Cell Res.* 1961. Vol. 25. P. 585—621.
- Hemminki K., Kyyronen P. Parental age and risk of sporadic and familial cancer in offspring: implications for germcell mutagenesis // *Epidemiology*. 1999. Vol. 10. P. 747—751.
- Hennings H., Boutwell R. K. Studies on the mechanism of skin tumor promotion // *Cancer Res.* 1970. Vol. 30. P. 312—320.
- Herzig M., Christofori G. Recent advances in cancer research: mouse models of tumorigenesis // *Biochim. Biophys. Acta*. 2002. Vol. 1602. P. 97—113.
- Heyer J., Yang K., Lipkin M. *et al.* Mouse models for colorectal cancer // *Oncogene*. 1999. Vol. 18. P. 5325—5333.
- Hill R., Song Y., Cardiff R. D., Van Dyke T. Selective evolution of stromal mesenchyme with p53 loss in response to epithelial tumorigenesis // *Cell*. 2005. Vol. 123. P. 1001—1011.
- Hoeijmakers J. H. Genome maintenance mechanisms are critical for preventing cancer as well as other aging-associated diseases // *Mech. Ageing Dev.* 2007. Vol. 128. P. 460—462.
- Hoeijmakers J. H. J., van der Pluijm I., Garinis G. *et al.* Genome maintenance: impact on life span, cancer and aging revealed by progeroid syndromes and mouse mutants // *Acta Biochim. Polonica*. 2007. Vol. 54, Suppl. 5. P. 3.
- Holliday R. Neoplastic transformation: the contrasting stability of human and mouse cells // *Cancer Surv.* 1996. Vol. 28. P. 103—115.
- Holliday R. The close relationship between biological aging and age-associated pathologies in humans // *J. Gerontol. Biol. Sci.*, 2004. Vol. 59A. P. 543—546.
- Holliday R. Somatic mutations and aging // *Mutat. Res.* 2000. Vol. 463. P. 173—178.
- Honda T., Sadamori N., Oshimura M. *et al.* Spontaneous immortalization of cultured skin fibroblasts obtained from a high-dose atomic bomb survivor // *Mutat. Res.* 1996. Vol. 354. P. 15—26.
- Irminger-Finger I. Science of cancer and aging // *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25. P. 1844—1851.
- Kamijo T., Zindy F., Roussel M. F. *et al.* Tumor suppression at the mouse INK4a locus mediated by the alternative reading frame product p19ARF // *Cell*. 1997. Vol. 91. P. 649—659.
- Kapahi P., Boulton M. E., Kirkwood T. B. L. Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress // *Free Radical Biol. Med.* 1999. Vol. 26. P. 495—500.
- Kato H., Harada M., Tsuchiya K., Moriwaki K. Absence of correlation between DNA repair in ultraviolet-irradiated mammalian cells and life span of the donor species // *Jpn. J. Genet.* 1980. Vol. 55. P. 99—108.
- Kawanishi S., Hiraki Y., Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging // *Mutat. Res.* 2001. Vol. 488. P. 65—76.

- Kim S., Kaminker P., Campisi J. Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending // *Oncogene*. 2002. Vol. 21. P. 503—511.
- Kim S. K. Common aging pathways in worms, flies, mice and humans // *J. Exp. Biol.* 2007. Vol. 210. P. 1607—1612.
- Kimura K. D., Tissenbaum H. A., Liu Y., Ruvkun G. *daf-2*, an insulin receptor-like gene that regulated longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans* // *Science*. 1997. Vol. 277. P. 942—946.
- King L. M., Song J., Wojcinski Z. W. *et al.* Absence of correlation between telomerase activity and hepatic neoplasia in B6C3F1 mice // *Toxicol. Lett.* 1999. Vol. 106. P. 247—254.
- Kinzler K.W., Vogelstein B. Gatekeepers and caretakers // *Nature*. 1997. Vol. 386. P. 761—763.
- Kirkwood T. B. L., Austad S. N. Why do we age // *Nature*. 2000. Vol. 408. P. 233—238.
- Kojima S., Sakakibara H., Motani S. *et al.* Incidence of chronic obstructive pulmonary disease, and the relationship between age and smoking in a Japanese population // *J. Epidemiol.* 2007. Vol. 17. P. 54—60.
- Kraupp-Grasl B., Huber W., Taper H., Schulte-Hermann R. Increased susceptibility of aged rats to hepatocarcinogenesis by the peroxisome proliferator nafenopin and the possible involvement of altered liver foci occurring spontaneously // *Cancer Res.* 1991. Vol. 51. P. 666—671.
- Kroes R., Garbis-Berkvens J. M., de Vries T., van Nesselrooy H. J. Histopathological profile of a Wistar rat stock including a survey of the literature // *J. Gerontol.* 1981. Vol. 36. P. 259—279.
- Krtolica A., Campisi J. Integrating epithelial cancer, aging stroma and cellular senescence // *Успехи геронтол.* 2003. Т. 11. С. 109—116.
- Krtolica A., Parinello S., Lockett S. *et al.* Senescent fibroblasts promote epithelial cell growth and tumorigenesis: a link between cancer and aging // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. Vol. 98. P. 12072—12077.
- Kruszewski F. H., Conti C. J., DiGiovanni J. Characterization of skin tumor promotion and progression by chrysarobin in SENCAR mice // *Cancer Res.* 1987. Vol. 47. P. 3783—3790.
- Kunisada T., Danner D., Friedman V., Schneider E. L. Increased susceptibility to SV40 transformation with development and in vitro aging // *Exp. Cell Res.* 1990. Vol. 189. P. 222—226.
- Lebel M., Cardiff R. D., Leder P. Tumorigenic effect of nonfunctional p53 or p21 in mice mutant in the Werner syndrome helicase // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 1816—1819.
- Lee G.-H., Sawada N., Mochizuki Y. *et al.* Immortal epithelial cells of normal C3H mouse liver in culture: possible precursor populations for spontaneous hepatocellular carcinoma // *Cancer Res.* 1989. Vol. 49. P. 403—409.
- Lee H.-W., Biasco M. A., Gottlieb G. J. *et al.* Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs // *Nature*. 1998. Vol. 392. P. 569—574.
- Lehmann A. R. Ageing. DNA repair of radiation damage and carcinogenesis: Fact and fiction // A. Likhachev, V. Anisimov, R. Montesano (eds). *Age-Related Factors in Carcinogenesis*. IARC Sci Publ N 58. Lyon: IARC, 1985. P. 203—214.
- Lever W. *Histopathology of the Skin*. Philadelphia: Lippincott. 1967. 563 p.
- Liang S. B., Ohtsuki Y., Furihata M. *et al.* Sun-exposure- and aging-dependent p53 protein accumulation results in growth advantage for tumour cells in carcinogenesis of nonmelanocytic skin cancer // *Virchows Arch.* 1999. Vol. 434. P. 193—199.
- Likhachev A. J. Effects of age on DNA repair in relation to carcinogenesis // *Cancer and Aging* / Eds. A. Macieira-Coelho, B. Nordenskjold. Boca Raton: CRC Press. 1990. P. 97—108.
- Liotta L. A., Kohn E. C. The microenvironment of the tumor-host interface // *Nature*. 2001. Vol. 411. P. 375—379.
- Lipman R. D., Dallal G. E., Bronson R. T. Effect of genotype and diet on age-related lesions in ad libitum fed and calorie-restricted F344, BN, and BNF3F1 rats // *J. Gerontol. Med. Sci.* 1999. Vol. 54A. P. 478—491.
- Lorke D. Zur Interpretation spontan auftretender Tumoren // *AMI-Ber.* 1981. Hft. 2. P. 87—89.
- Luzatto L. The mechanisms of neoplastic transformation // *Eur. J. Cancer*. 2001. Vol. 37. P. S114—S117.
- Maciera-Coelho A. Genome reorganization through cell division, implications for aging of the organism and cancer development // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 108—128.

- Maciera-Coelho A.* Neoplastic disease through the human life span // *Biogerontology*. 2001. Vol. 2. P. 179—192.
- Mailand N., Falck J., Lukas C. et al.* Rapid destruction of human Cdc25A in response to DNA damage // *Science*. 2000. Vol. 288. P. 1425—1429.
- Martens J. W., Sieuwerts A. M., Vries J. B. et al.* Aging of stromal-derived human breast fibroblasts might contribute to breast cancer progression // *Thromb. Haemost.* 2003. Vol. 89. P. 393—404.
- Martin G. M.* Syndromes of accelerated aging // *Natl. Cancer Inst. Monograph*. 1982. Vol. 60. P. 241—247.
- Maslansky C. J., Williams G. M.* Ultraviolet light-induced DNA repair synthesis in hepatocytes from species of differing longevities // *Mech Ageing Dev.* 1985. Vol. 29. P. 191—203.
- Masoro E. J.* Caloric restriction and ageing: an update // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 299—305.
- Mathon N. F., Malcolm D. S., Harrisingh M. C. et al.* Lack of replicative senescence in normal rodent glia // *Science*. 2001. Vol. 291. P. 872—875.
- Matoha M. F., Cosgrove J. W., Atak J. R., Rapoport S. I.* Selective elevation of c-myc transcript levels in the liver of the aging Fischer-344 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987. Vol. 147. P. 1—7.
- Matsumoto A. M., Marck B. T., Gruenewald D. A. et al.* Aging and the neuroendocrine regulation and body weight // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 1251—1265.
- Mattson M. P., Duan W., Maswood N.* How does the brain control lifespan? // *Ageing Res. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 155—165.
- Mayersohn M.* Pharmacokinetics in the elderly // *Environ Health. Perspectives Suppl.* 11. 1994. Vol. 102. P. 119—124.
- McCullough K. D., Coleman W. B., Smith G. J., Grisham J. W.* Age-dependent regulation of the tumorigenic potential of neoplastically transformed rat liver epithelial cells by the liver micro-environment // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. P. 3668—3671.
- Miller R. A.* Gerontology as oncology // *Cancer*. 1991. Vol. 68. P. 2496—2501.
- Miller R. A.* Aging and cancer — another perspective // *J. Gerontol.* 1993. Vol. 48. P. B8—B9.
- Miyaishi O., Ando F., Matsuzawa K. et al.* Cancer incidence in old age // *Mech. Ageing Dev.* 2000. Vol. 117. P. 47—55.
- Mohaghegh P., Hickson I. D.* DNA helicase deficiencies associated with cancer predisposition and premature ageing disorders // *Hum. Mol. Genet.* 2001. Vol. 10. P. 741—746.
- Moolgavkar S. H., Knudson A. G.* Mutation and cancer: a model for human carcinogenesis // *J. Natl. Cancer Inst.* 1981. Vol. 66. P. 1037—1052.
- Moolgavkar S., Krewski D., Zeise L. et al. (eds).* Quantitative Estimation and Prediction of Human Cancer Risk. IARC Sci. Publ. N 131. Lyon: IARC. 1999. 335 p.
- Morales C. P., Holet S. E., Ouellette M. et al.* Absence of cancer-associated changes in human fibroblasts immortalized with telomerase // *Nat. Genetics*. 1999. Vol. 21. P. 115—117.
- Morita A.* Tobacco smoke causes premature skin aging // *J. Dermatol. Sci.* 2007. Vol. 48. P. 169—175.
- Moriwaki S., Ray S., Tarone R. E. et al.* The effect of donor age on the processing of UV-damaged DNA by cultured human cells: reduced DNA repair capacity and increased DNA mutability // *Mutat. Res.* 1996. Vol. 364. P. 117—123.
- Napalkov N. P.* The relation of human cancer incidence to age: general patterns and exceptions. // *Age-Related Factors in Carcinogenesis / Eds A. J. Likhachev, V. N. Anisimov, R. Montesano. (IARC Sci. Publ. N 58). IARC: Lyon. 1985. P. 9—20.*
- Neidle S., Parkinson G.* Telomere maintenance as a target for anticancer drug discovery // *Nature Rev. Drug Discovery*. 2002. Vol. 1. P. 383—393.
- Nekhaeva E., Bodyak N. D., Kraytsberg Y. et al.* Clonally expanded mtDNA point mutations are abundant in individual cells of human tissues // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. P. 5521—5526.
- Nettesheim P., Topping D. C., Jamasbi R.* Host and environmental factors enhancing carcinogenesis in the respiratory tract // *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1981. Vol. 21. P. 133—163.

- Neumann C. A., Fang Q.* Are peroxiredoxins tumor suppressors? // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007. Vol. 7. P. 375—380.
- Ohno S., Nagai Y.* Genes in multiple copies as the primary cause of aging / Eds D. Bergsma, D. E. Harrison, N. W. Paul. *Genetic Effects of Aging*. N. Y.: Alan R. Liss, 1978. P. 501—514.
- Olumi A. F., Grossfeld G. D., Hayward S. W. et al.* Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium // *Cancer Res.* 1999. Vol. 59. P. 5002—5011.
- Ono T., Uehara Y., Kurishita A. et al.* Biological significance of DNA methylation in the aging process // *Age & Aging.* 1993. Vol. 22. P. 534—543.
- Ouhtit A., Ueda M., Nakazawa M. et al.* Quantitative detection of ultraviolet-specific p53 mutations in normal skin from Japanese patients // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1997. Vol. 6. P. 433—438.
- Pantoja C., Serrano M.* Murine fibroblasts lacking p21 undergo senescence and are resistant to transformation by oncogenic Ras // *Oncogene.* 1999. Vol. 18. P. 4974—4978.
- Paolisso G., Barbieri M., Rizzo M. R. et al.* Low insulin resistance and preserved  $\beta$ -cell function contribute to human longevity but are not associated with TH-INS genes // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 37. P. 149—156.
- Parkin D. M., Bray F. I., Devesa S. S.* Cancer burden in the year 2000. The global picture // *Eur. J. Cancer.* 2001. Vol. 37. P. S4—S66.
- Parrinello S., Samper K., Krizanovic A. et al.* Oxygen sensitivity severely limits the replicative life span of murine fibroblasts // *Nat. Cell Biol.* 2003. Vol. 5. P. 741—747.
- Pawelec G., Wagner W., Adibzadeh M. et al.* T cell immunosenescence in vitro and in vivo // *Exp. Gerontol.* 1999. Vol. 34. P. 419—429.
- Pelham R. J., Rodgers L., Hall I. et al.* Identification of alterations in DNA copy number in host stromal cells during tumor progression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. P. 19848—19853.
- Peeper D. S., Dannenberg J. H., Douma S. et al.* Escape from premature senescence is not sufficient for oncogenic transformation by Ras // *Nat. Cell Biol.* 2001. Vol. 3. P. 198—203.
- Perlstein T., Weuve J., Schwartz J. et al.* Cumulative community-level lead exposure and pulse pressure: the normative aging study // *Environ. Health Perspect.* 2007. Vol. 115. P. 1696—1700.
- Perou C. M., Sorlie T., Eisen M. B. et al.* Molecular portraits of human breast tumours // *Nature.* 2002. Vol. 406. P. 747—752.
- Peto J.* Cancer epidemiology in the last century and the next decade // *Nature.* 2001. Vol. 411. P. 390—395.
- Peto R., Doll R.* There is no such thing as aging // *Br. J. Med.* 1997. Vol. 315. P. 1030—1032.
- Peto R., Parish S. E., Gray R. G.* There is no such thing as ageing and cancer is not related to it // *Age-Related Factors in Carcinogenesis* / Eds A. Likhachev, V. Anisimov, R. Montesano. (IARC Sci. Publ. N 58). Lyon: IARC, 1985. P. 43—53.
- Peto R., Roe F. J. C., Lee P. N. et al.* Cancer and ageing in mice and men // *Br. J. Cancer.* 1975. Vol. 32. P. 411—426.
- Pitot H. C.* The molecular biology of carcinogenesis // *Cancer.* 1993. Vol. 72. P. 962—970.
- Pompei F., Wilson R.* Age distribution of cancer: the incidence turnover at old age // *Human Ecol. Risk Assessment.* 2001. Vol. 7. P. 1619—1650.
- Pompei F., Polkanov M., Wilson R.* Age distribution of cancer in mice: the incidence turnover at old age // *Toxicol. Industr. Health.* 2001. Vol. 17. P. 7—16.
- Ponten J.* Abnormal cell growth (neoplasia) and aging // *Handbook of the Biology of Aging* / Eds C. E. Finch, L. Hayflick. N. Y.: Van Nostrand Reinhold Co., 1977. P. 536—560.
- Ponten J.* Cell biology of precancer // *Eur. J. Cancer.* 2001. Vol. 37. P. S97—S113.
- Pour P., Althoff J., Salmasi S. Z., Stepan K.* Spontaneous tumors and common diseases in three types of hamsters. // *J. Natl. Cancer Inst.* 1979. Vol. 63. P. 797.
- Provost N., Moreau M., Leturque A., Nizard C.* Ultraviolet A radiation transiently disrupt gap junctional communication in human keratinocytes // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2003. Vol. 284. P. C51—C59.
- Reddel R. R.* The role of senescence and immortalization in carcinogenesis // *Carcinogenesis.* 2000. Vol. 21. P. 477—484.



- Rangarajan A., Weinberg R. A.* Comparative biology of mouse versus human cells: modelling human cancer in mice // *Nat. Rev. Cancer*. 2003. Vol. 3. P. 952—959.
- Reddel R. R.* A reassessment of the telomere hypothesis of senescence // *Bioessays*. 1998. Vol. 20. P. 977—984.
- Reya T., Morrison S. J., Clarke M. F., Weissman I. L.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells // *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 105—111.
- Rha S. Y. et al.* Changes of telomerase and telomere length in paired normal and cancer tissues of breast // *Int. J. Oncol.* 1999. Vol. 15. P. 839—845.
- Ries L. A. G., Eisner M. P., Kosary C. L. et al.* (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1973—1998, National Cancer Institute. Bethesda, MD, 2001.
- Rinehart C. A., Torti V. R.* Aging and cancer: The role of stromal interactions with epithelial cells // *Mol. Carcinogenesis*. 1997. Vol. 18. P. 187—192.
- Risch N., Reich E. W., Wishnick M. M., McCarthy J. G.* Spontaneous mutation and parental age in humans // *Am. J. Human Genet.* 1987. Vol. 41. P. 218—248.
- Robanus-Maandag E., Dekker M., van der Valk M. et al.* p107 is a suppressor of retinoblastoma development in pRb-deficient mice // *Genes Dev.* 1998. Vol. 12. P. 1599—1609.
- Roe F. J. C., Carter R. L., Mitchley R. et al.* On the persistence of tumor initiation and the acceleration of tumor progression in mouse skin tumorigenesis // *Int. J. Cancer*. 1972. Vol. 9. P. 264—273.
- Romanov S. R., Kozakiewicz B. K., Holst C. R. et al.* Normal human mammary epithelial cells spontaneously escape senescence and acquire genomic changes // *Nature*. 2001. Vol. 409. P. 633—637.
- Rose M. R.* *Evolutionary Biology of Aging*. N. Y.: Oxford Univ. Press, 1991. 221 p.
- Rubin H.* Cell aging in vivo and in vitro // *Mech. Ageing Dev.* 1997. Vol. 98. P. 1—35.
- Rubin H.* Selected cell and selective microenvironment in neoplastic development // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 799—807.
- Rudolph K. L., Millard M., Bosenberg M. W., DePinho R. A.* Telomere dysfunction and evolution of intestinal carcinoma in mice and humans // *Nat. Genet.* 2001. Vol. 28. P. 155—159.
- Sacher G. A.* Life table modification and life prolongation // C. E. Finch, L. Hayflick (eds). *Handbook of the Biology of Aging*. N. Y.: Van Nostrand Reinhold, 1977. P. 582—638.
- Salvoli S., Bonafe M., Capri M., Monti D., Franceschi C.* Mitochondria, aging and longevity — a new perspective // *FEBS Lett.* 2001. Vol. 492. P. 9—13.
- Saretzki G., Sitte N., Merkel U. et al.* Telomere shortening triggers a p53-dependent cell cycle arrest via accumulation of G-rich single stranded DNA fragments // *Oncogene*. 1999. Vol. 18. P. 5148—5158.
- Schlessinger D., Van Zant G.* Does functional depletion of stem cells drive aging? // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1537—1553.
- Schmitt C.A.* Senescence, apoptosis and therapy — cutting the lifelines of cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2003. Vol. 3. P. 286—295.
- Schwartsburd P. M.* Age-promoted reation of a pro-cancer microenvironment by inflammation: pathogenesis of dyscoordinated feedback control // *Mech. Ageing Dev.* 2004. Vol. 125. P. 581—590.
- Schwartz P. S., Chen C. S., Waxman D. J.* Enhanced bystander cytotoxicity of P450 gene-directed enzyme prodrug therapy by expression of the antiapoptotic factor p35 // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 6928—6937.
- Schwartz A. G., Moore C. J.* Inverse correlatin between species life span and capacity of cultured fibroblasts to bind 7,12-dimethylbenz(a)anthracene to DNA // *Exp. Cell Res.* 1977. Vol. 109. P. 448—450.
- Serrano M., Blasco M. A.* Putting the stress on senescence // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2001. Vol. 13. P. 748—753.
- Serrano M., Lin A. W., McCurrach M. E. et al.* Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a // *Cell*. 1997. Vol. 88. P. 593—602.
- Setlow R. B., Lipman J. M., Sokoloff K.* DNA repair by articular chondrocytes. II. Direct measurements of repair of ultraviolet and X-ray damage in monolayer culture // *Mech. Ageing Dev.* 1983. Vol. 21. P. 97—103.

- Sharpless N. E., Ramsey M. R., Balasubramanian P. et al.* The differential impact of p16(INK4a) or p19(ARF) deficiency on cell growth and tumorigenesis // *Oncogene*. 2004. Vol. 23. P. 379—385.
- Shay J. W.* Aging and cancer: are telomeres and telomerase the connection? // *Mol. Med. Today*. 1995. Vol. 1. P. 378—384.
- Shay J. W., Pereira-Smith O. M., Wright W. R.* A role of both Rb and p53 in the regulation of human cellular senescence // *Exp. Cell Res.* 1991. Vol. 196. P. 33—39.
- Shekhar M. P., Werdell J., Santer S. J. et al.* Breast stroma plays a dominant regulatory role in breast epithelial growth and differentiation: implications for tumor development and progression // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 1320—1326.
- Shelton D. N., Chang E., Whittier P. S. et al.* Microarray analysis of replicative senescence // *Current Biology*. 1999. Vol. 9. P. 939—945.
- Sherr C. J.* Cell cycle control and cancer // *Harvey Lect.* 2000/2001. Vol. 96. P. 73—92.
- Shigenaga M. K., Hogen T. M., Ames B. N.* Oxidative damage and mitochondrial decay in aging // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994. Vol. 91. P. 10771—10778.
- Simpson A. J. G.* A natural somatic mutation frequency and human carcinogenesis // *Adv. Cancer Res.* 1997. Vol. 71. P. 209—240.
- Skobe M., Fusenig N. E.* Tumorigenic conversion of immortal human keratinocytes through stromal activation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95. P. 1050—1055.
- Skulachev V. P.* The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 995—1024.
- Smith G. S., Walford R. L., Mickey H. R.* Lifespan and incidence of cancer and other diseases in selected long-lived inbred mice and their F1 hybrids // *J. Natl. Cancer Inst.* 1973. Vol. 50. P. 1195—1213.
- Sorlie T., Tibshirani R., Parker J. et al.* Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. Vol. 100. P. 8418—8423.
- Staats J.* Standardized nomenclature for inbred strains of mice: seventh listing // *Cancer Res.* 1980. Vol. 40. P. 2083—2128.
- Stenback F., Peto R., Shubik P.* Initiation and promotion at different ages and doses in 2200 mice. III. Linear extrapolation from high doses may underestimate low-dose tumour risks // *Br. J. Cancer*. 1981. Vol. 44. P. 24—34.
- Stevens R. G.* Circadian disruption and breast cancer. From melatonin to clock genes // *Epidemiology*. 2005. Vol. 16. P. 254—258.
- Stewart S. A., Weinberg R. A.* Senescence: does it all happen at the ends? // *Oncogene*. 2002. Vol. 21. P. 627—630.
- Storer J. B.* Longevity and gross pathology at death in 22 inbred mouse strains // *J. Gerontol.* 1966. Vol. 21. P. 404—409.
- Summerhayes I. C., Franks L. M.* Effect of donor age on neoplastic transformation of adult bladder epithelium in vitro // *J. Natl. Cancer Inst.* 1979. Vol. 62. P. 1017—1023.
- Takahashi M., Nishimura S., Miyajima K. et al.* Time-dependent promotion activity of 17 $\beta$ -estradiol on uterine carcinogenesis in mice initiated with N-ethyl-N-nitrosourea // *Cancer Lett.* 2001. Vol. 165. P. 123—130.
- Takeda T., Hosokawa M., Takeshita S. et al.* A new murine model of accelerated senescence // *Mech. Ageing Dev.* 1981. Vol. 17. P. 183—194.
- Takubo K., Izumiyama-Shimomura N., Honma N. et al.* Telomere length are characteristic in each human individual // *Exp. Gerontol.* 2002. Vol. 37. P. 523—531.
- Tang D. G., Tokumoto Y. M., Apperly J. A. et al.* Lack of replicative senescence in cultured rat oligodendrocyte precursor cell // *Science*. 2001. Vol. 291. P. 868—871.
- Tavoloni N., Inoue H.* Cellular aging is a critical determinant of primary cell resistance to v-src transformation // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. P. 237—247.
- Teramoto S., Fukuchi Y., Uejima Y. et al.* Influences of chronic tobacco smoke inhalation on aging and oxidant-antioxidant balance in the senescent-accelerated mouse (SAM)-P/2 // *Exp. Gerontol.* 1993. Vol. 28. P. 87—95.
- Thompson T. A., Haag J. D., Gould M. N.* Ras gene mutations are absent in NMU-induced mammary carcinomas from aging rat // *Carcinogenesis*. 2000. Vol. 21. P. 1917—1922.

- Totter J. R. Spontaneous cancer and its possible relationship to oxygen metabolism // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. Vol. 77. P. 1763—1767.
- Turusov V. S., Day N. E., Tomatis L. et al. Tumors in CF-1 mice exposed for six consecutive generations to DDT // J. Natl. Cancer Inst. 1973. Vol. 51. P. 983—997.
- Tyner S. D., Venkatachalam S., Choi J. et al. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes // Nature. 2002. Vol. 415. P. 45—53.
- Ueda M. Telomerase in cutaneous carcinogenesis // J. Dermatol. Sci. 2000. Vol. 23, Suppl 1. P. S37—S40.
- Ukrainseva S. V., Yashin A. I. How individual age-associated changes may influence human morbidity and mortality patterns // Mech. Ageing Dev. 2001. Vol. 122. P. 1447—1460.
- Ulrich P., Cerami A. Protein glycation, diabetes, and aging // Recent Progr. Horm. Res. 2001. Vol. 56. P. 1—21.
- Van Duuren B. L., Sivak A., Katz C. et al. The effect of aging and interval between primary and secondary treatment in two-stage carcinogenesis on mouse skin // Cancer Res. 1975. Vol. 35. P. 502—505.
- Vaupel J. W., Yashin A. I. Heterogeneity's ruses: some surprising effects of selection on population dynamics // Am. Statistician. 1985. Vol. 39. P. 176—185.
- Vaupel J. W., Carey J. R., Christensen K. et al. Biodemographic trajectories of longevity // Science. 1998. Vol. 280. P. 855—860.
- Vaziri H., Benchimol S. Alternative pathways for the extension of cellular life span: inactivation of p53/pRb and expression of telomerase // Oncogene. 1999. Vol. 18. P. (53):7676—80. Review.
- Vaziri H., Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span // Curr. Biol. 1998. Vol. 8. P. 279—282.
- Vijg J. Somatic mutations and aging: a re-evaluation // Mutat. Res. 2000. Vol. 447. P. 117—135.
- Von Zglinicki T., Burkle A., Kirkwood T. B. L. Stress, DNA damage and ageing — an integrative approach // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 1049—1062.
- Von Zglinicki T., Pilger R., Sitte N. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28. P. 64—74.
- Walter C. A., Intano G. W., McCarrey J. R. et al. Mutation frequency declines during spermatogenesis in young mice but increases in old mice // Proc Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 10015—10019.
- Wang J., Hannon G. J., Beach D. H. Risky immortalization by telomerase // Nature. 2000. Vol. 405. P. 755—756.
- Ward J. M. Background data and variations in tumor rates of control rats and mice // Prog. Exp. Tumor Res. 1983. Vol. 26. P. 241—258.
- Ward J. M., Lynch P., Riggs C. Rapid development of hepatocellular neoplasms in aging male C3H/HeNcr mice given phenobarbital // Cancer Lett. 1988. Vol. 39. P. 9—18.
- Ward J. M. Increased susceptibility of liver of aged F.344/Ncr rats to the effects of phenobarbital on the incidence, morphology, and histochemistry of hepatocellular foci and neoplasms // J. Natl. Cancer Inst. 1983. Vol. 71. P. 815—823.
- Wei Q. Effect of aging on DNA repair and skin carcinogenesis: a minireview of population-based studies // J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. 1998. Vol. 3, N 1. P. 19—22.
- Weindruch R., Walford R. The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction. Springfield: C. C. Thomas, 1988. 310 p.
- Westendorp R. G., Kirkwood T. B. L. Human longevity at the cost of reproductive success // Nature. 1998. Vol. 396. P. 743—746.
- Wong P. K., Cristie J. J., Wark J. D. The effect of smoking on bone health // Clin. Sci. (Lond). 2007. Vol. 113. P. 233—241.
- Woodhead A. D., Setlow R. B., Grist E. DNA repair and longevity in three species of cold-blooded vertebrates // Exp. Gerontol. 1980. Vol. 15. P. 301—304.
- Wright W. E., Shay J. W. Telomere dynamics in cancer progression and prevention: fundamental differences in human and mouse telomere biology // Nature Medicine. 2000. Vol. 6. P. 849—851.
- Wynford-Thomas D. Cellular senescence and cancer // J. Pathol. 1999. Vol. 187. P. 100—111.

*Wynford-Thomas D., Bond J. A., Wyllie F. S., Jones C. J.* Does telomere shortening drive selection for p53 mutation in human cancer? // *Mol. Carcinogenesis*. 1995. Vol. 12. P. 119—123.

*Xie H. Q., Hu V. W.* Modulation of gap junction in senescent endothelial cells // *Exp. Cell. Res.* 1994. Vol. 214. P. 172—176.

*Xu L., Bard M. Z.* Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats: imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia // *Horm. Metab. Res.* 1999. Vol. 31. P. 278—282.

*Yashin A. I., Begun A. S., Boiko S. I. et al.* New age patterns of survival improvement in Sweden: do they characterize changes in individual aging? // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 637—647.

*Yashin A. I., Ukraintseva S. V., Boiko S. I., Arbeev K. G.* Individual aging and mortality rate: how are they related? // *Social Biology*. 2002. Vol. 49. P. 206—217.

*Youssef J. A., Bouziane M., Badr M. Z.* Age-dependent effects of nongenotoxic hepatocarcinogens on liver apoptosis in vivo // *Mech. Ageing Dev.* 2003. Vol. 124. P. 333—340.

*Yu B. P.*, ed. *Free Radicals in Aging*. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1993. 264 c.

*Zhang Y., Herman B.* 2002. Ageing and apoptosis // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 245—260.

*Zindy F., Eischen C. M., Randle D. H. et al.* Myc signaling via the ARF tumor suppressor regulates p53-dependent apoptosis and immortalization // *Genes Dev.* 1998. Vol. 12. P. 2424—2433.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Предисловие к 1-му изданию</i> . . . . .	5
<i>Предисловие ко 2-му изданию</i> . . . . .	11

### *Часть I*

#### **ЭВОЛЮЦИЯ КОНЦЕПЦИЙ В ГЕРОНТОЛОГИИ**

<i>Глава 1. Обзор истории геронтологии (в соавторстве с М. В. Соловьевым)</i> . . . . .	15
1.1. Введение . . . . .	15
1.2. Периодизация истории геронтологии . . . . .	16
1.2.1. Познание и моделирование . . . . .	16
1.2.2. Периодизация истории геронтологии с позиции теории моделей . . . . .	19
1.2.3. Другие варианты периодизации геронтологии . . . . .	21
1.3. Период качественных моделей . . . . .	22
1.3.1. Продление жизни в древнейших культурах . . . . .	22
1.3.2. Даосизм . . . . .	23
1.3.3. Герокомия . . . . .	24
1.3.4. Алхимия . . . . .	26
1.4. Период количественных моделей . . . . .	28
1.4.1. Идея прогресса и формирование научной методологии в геронтологии . . . . .	28
1.4.2. Начало научного исследования старения . . . . .	29
1.4.3. Продолжение традиции герокомии . . . . .	30
1.5. Период аналитических моделей . . . . .	31
1.5.1. Начало формирования геронтологии как самостоятельной научной дисциплины . . . . .	31
1.5.2. Первые попытки продлить жизнь, основанные на биологических исследованиях . . . . .	33
1.6. Период кибернетических моделей . . . . .	37
1.6.1. Формирование современной геронтологии . . . . .	37
1.6.2. Необходимость автоматизации геронтологических исследований . . . . .	39
1.6.3. Перспективы применения достижений нанотехнологии для решения проблемы продления жизни . . . . .	40
Литература . . . . .	45
<i>Глава 2. Теории и модели старения и смертности</i> . . . . .	49
2.1. Современные теории старения . . . . .	49
2.1.1. Классификации теорий старения . . . . .	49
2.1.2. Свободнорадикальная теория старения: основные положения . . . . .	54
2.1.3. Митохондриальная теория старения . . . . .	56
2.1.4. Эволюционные теории старения. Теория расходуемой сомы . . . . .	59

2.1.5. Старение как медленный фенотоз . . . . .	67
2.1.6. Теория маргинотомии . . . . .	69
2.1.7. Редусомная теория старения . . . . .	70
2.1.8. Нейроэндокринологическая (элевационная) теория старения и формирования возрастной патологии . . . . .	73
2.2. Математические модели старения и смертности . . . . .	77
2.3. Теория надежности и старение . . . . .	87
2.4. Термодинамические модели старения . . . . .	88
2.5. Биодемография . . . . .	90
2.6. Заключение . . . . .	92
Литература . . . . .	95

**Часть II**

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ**

<i>Глава 3.</i> Генетика старения и долгожительства . . . . .	107
3.1. Популяционная генетика старения . . . . .	107
3.2. Наследственное преждевременное старение . . . . .	111
3.3. Репродуктивное поведение и эволюция продолжительности жизни . . . . .	115
3.4. Гены гибели и долголетия у круглых червей . . . . .	119
3.5. Гены гибели и долголетия у плодовых мух . . . . .	123
3.6. Гены долголетия у мышей . . . . .	126
3.7. Предполагаемые гены смерти и долголетия человека . . . . .	131
3.8. Роль специфических хромосом в старении . . . . .	140
3.9. Изучение профиля генетического транскриптома при старении . . . . .	141
3.10. Заключение . . . . .	148
Литература . . . . .	153
<i>Глава 4.</i> Молекулярные механизмы старения . . . . .	161
4.1. Метилирование ДНК и старение . . . . .	161
4.2. Гликозилирование белков и ДНК . . . . .	162
4.3. Роль окислительного стресса в старении . . . . .	165
4.3.1. Продукция свободных радикалов при старении . . . . .	165
4.3.2. Система антиоксидантной защиты при старении . . . . .	166
4.3.3. Окислительное повреждение биомолекул при старении . . . . .	170
4.3.4. Функция митохондрий при старении . . . . .	173
4.3.5. Корреляции между видовой продолжительностью жизни и интенсивностью окислительных процессов в организме . . . . .	175
4.3.6. Антиоксиданты как геропротекторы . . . . .	179
4.4. Возраст и частота мутаций . . . . .	180
4.5. Возраст и репарация ДНК . . . . .	185
4.6. Изменения структуры и функции генов при старении . . . . .	190
Литература . . . . .	191
<i>Глава 5.</i> Пролиферативная активность и клеточное старение . . . . .	197
5.1. Митотический цикл и его регуляция . . . . .	197
5.2. Старение трансплантированных <i>in vivo</i> клеток . . . . .	205
5.3. Возрастные изменения пролиферативной активности тканей <i>in situ</i> . . . . .	208
5.4. Ответ старых тканей на пролиферативные стимулы . . . . .	214
5.5. Клеточное старение <i>in vitro</i> . . . . .	215
5.6. Роль теломер и теломеразы в старении . . . . .	220
5.6.1. Теломераза и теломера: основные свойства . . . . .	220
5.6.2. Теломера и теломераза у человека . . . . .	222

5.5.3. Видовые особенности биологии теломеры и теломеразы: мышь против человека? . . . . .	230
5.7. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и старение . . . . .	236
5.8. Маркеры старения мезенхимальных стволовых клеток . . . . .	237
5.9. Кроветворные стволовые клетки и старение . . . . .	241
5.10. Причины клеточного старения <i>in vitro</i> . . . . .	242
5.11. Старение <i>in vitro</i> против старения <i>in vivo</i> . . . . .	244
5.12. Накапливаются ли стареющие клетки в тканях при старении <i>in vivo</i> ? . . . .	246
5.13. Апоптоз и продолжительность жизни. . . . .	248
5.14. Взаимоотношения клеточного старения и апоптоза . . . . .	254
Литература . . . . .	257

**Часть III**

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ**

<b>Глава 6. Возрастные изменения нервной системы . . . . .</b>	<b>269</b>
6.1. Введение . . . . .	269
6.2. Структурные изменения в нервной системе . . . . .	270
6.3. Биохимические изменения в головном мозге при старении . . . . .	271
6.4. Возрастные изменения транскриптома в ЦНС . . . . .	273
6.5. Функциональные изменения нервной системы . . . . .	274
6.6. Структурные и функциональные изменения диффузной нейромундоэндокринной системы (ДНИЭС) при старении . . . . .	275
Литература . . . . .	277
<b>Глава 7. Старение эндокринной системы . . . . .</b>	<b>279</b>
7.1. Возрастные изменения в репродуктивной системе . . . . .	279
7.1.1. Регуляция репродуктивной системы у млекопитающих . . . . .	279
7.1.2. Возрастные изменения женской половой системы . . . . .	281
7.1.3. Трансплантация молодых яичников увеличивает продолжительность жизни старых овариоэктомированных мышей . . . . .	285
7.1.4. Последствия возрастного выключения репродуктивной функции . . . . .	286
7.1.5. Старение репродуктивной функции у мужчин . . . . .	287
7.2. Стресс, адаптация и старение . . . . .	288
7.3. Гормезис и старение . . . . .	292
7.4. Система гормон роста — инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1): роль в старении и долголетию . . . . .	298
Литература . . . . .	308
<b>Глава 8. Эпифиз, биоритмы организма и старение . . . . .</b>	<b>313</b>
8.1. Введение . . . . .	313
8.2. Роль эпифиза в организме . . . . .	314
8.3. Морфологические изменения эпифиза при старении . . . . .	319
8.4. Изменения иннервации эпифиза при старении . . . . .	323
8.5. Возрастные изменения ритма и продукции мелатонина у человека . . . . .	324
8.6. Возрастные изменения ритма и продукции мелатонина у животных . . . . .	326
8.7. Возрастные изменения структуры и функции супрахиазматического ядра гипоталамуса . . . . .	329
8.8. Функция часовых генов при старении . . . . .	331
8.9. Световой режим, старение и возрастная патология . . . . .	335
8.10. Темнота, старение и рак . . . . .	350
8.11. Заключение . . . . .	351
Литература . . . . .	354

<i>Глава 9.</i> Иммунологические механизмы старения . . . . .	364
9.1. Иммуностарение . . . . .	364
9.2. Биологические аспекты воспаления и старение . . . . .	370
9.3. Инфекция, воспаление и долголетие: биодемографические аспекты . . . . .	374
Литература . . . . .	378

**Часть IV**

**СТАРЕНИЕ И ВОЗРАСТНАЯ ПАТОЛОГИЯ**

<i>Глава 10.</i> Взаимоотношения между биологическим старением и ассоциированными с возрастом болезнями . . . . .	383
10.1. Введение . . . . .	383
10.2. Понятия «нормального» и «патологического» старения . . . . .	384
10.3. Критерии отличия нормального старения от ассоциированных с возрастом болезней . . . . .	385
10.4. Экспериментальные подходы к решению вопроса о характере взаимоотношений между старением и болезнями . . . . .	389
Литература . . . . .	394
<i>Глава 11.</i> Старение и канцерогенез . . . . .	397
11.1. Введение. Гипотезы о взаимосвязи рака и старения . . . . .	397
11.2. Продолжительность жизни и частота спонтанных опухолей: эволюционный аспект . . . . .	398
11.2.1. Продолжительность жизни вида и рак . . . . .	399
11.2.2. Различия в продолжительности жизни разных линий животных одного вида и рак . . . . .	404
11.2.3. Продолжительность жизни популяции и рак . . . . .	406
11.3. Видовые особенности старения и канцерогенеза: мышь против человека? . . . . .	409
11.4. Возрастное увеличение частоты опухолей у человека . . . . .	417
11.5. Возрастное увеличение частоты спонтанных опухолей у лабораторных животных . . . . .	422
11.6. Снижение частоты спонтанных опухолей в самых старших возрастах . . . . .	423
11.7. Чувствительность к канцерогенам в разном возрасте . . . . .	424
11.8. Старение и многостадийная модель канцерогенеза . . . . .	428
11.9. Возрастная аккумуляция инициированных клеток в тканях . . . . .	432
11.10. Влияние старения на рост перевиваемых опухолей . . . . .	436
11.11. Клеточное старение и канцерогенез: роль теломер и теломеразы . . . . .	439
11.12. Роль стромальной ткани в опухолевой прогрессии . . . . .	445
11.13. Влияние старых клеток на развитие опухолей . . . . .	447
11.14. Канцерогенное старение . . . . .	450
11.15. Ускоряет ли преждевременное старение развитие опухолей? . . . . .	455
11.16. Окислительный стресс, старение и канцерогенез . . . . .	457
11.17. Увеличение продолжительности жизни и риск рака . . . . .	457
11.18. Заключение . . . . .	460
Литература . . . . .	463



## CONTENTS

<i>Foreword to the 1<sup>st</sup> edition</i> . . . . .	5
<i>Foreword to the 2<sup>nd</sup> edition</i> . . . . .	11

### *Part I*

#### EVOLUTION OF CONCEPTS IN GERONTOLOGY

<i>Chapter 1</i> . Review of history of gerontology ( <i>co-author M. V. Soloviev</i> ) . . . . .	15
<i>Chapter 2</i> . Theories and models of aging and mortality . . . . .	49

### *Part II*

#### MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS OF AGING

<i>Chapter 3</i> . Genetics of aging and longevity . . . . .	107
<i>Chapter 4</i> . Molecular mechanisms of aging . . . . .	161
<i>Chapter 5</i> . Proliferative activity and cellular senescence . . . . .	197

### *Part III*

#### PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF AGING

<i>Chapter 6</i> . Age-related changes in nervous system. . . . .	269
<i>Chapter 7</i> . Aging of the reproductive system. . . . .	279
<i>Chapter 8</i> . Pineal gland, biorhythms and aging of the organism . . . . .	313
<i>Chapter 9</i> . Immunological mechanisms of aging. . . . .	364

### *Part IV*

#### AGING AND AGE-RELATED PATHOLOGY

<i>Chapter 10</i> . Relationships between biological aging and age-associated diseases. . . . .	383
<i>Chapter 11</i> . Aging and carcinogenesis . . . . .	397

*Научное издание*

***Владимир Николаевич Анисимов***

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ  
И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ**

**В 2-х томах**

**Том 1**

*Издание второе, дополненное*

Редактор издательства *О. В. Иванова*  
Художник *Е. В. Кудина*  
Технический редактор *Е. Г. Колонова*  
Корректоры *О. М. Бобылева, Л. Д. Колосова* и  
*М. Н. Сенина*  
Компьютерная верстка *Т. Н. Поповой*

Лицензия ИД № 02980 от 06 октября 2000 г. Сдано в набор 04.07.08.  
Подписано к печати 25.11.08. Формат 70×100<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная.  
Гарнитура таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 39.7. Уч.-изд. л. 39.0.  
Тираж 400 экз. Тип. зак. № 3591. С 256

Санкт-Петербургская издательская фирма «Наука» РАН  
199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 1  
E-mail: [main@nauka.nw.ru](mailto:main@nauka.nw.ru)  
Internet: [www.naukaspb.spb.ru](http://www.naukaspb.spb.ru)

Первая Академическая типография «Наука»  
199034, Санкт-Петербург, 9 линия, 12

ISBN 978-5-02-026356-7



9785020263567