

Успехи ГЕРОНТОЛОГИИ

Молекулярные и физиологические
механизмы старения

Модели и методы в биологии старения

Профилактика преждевременного
старения

Новое в гериатрии

Медико-социальная помощь пожилым

Advances in Gerontology

2009 № 2
Том 22
Volume 22

**УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ
ADVANCES IN GERONTOLOGY**



«ЭСКУЛАП» • САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2009

Russian Academy of Sciences • Division of Biological Sciences
Scientific Council on Physiological Sciences
Gerontological Society
North-Western Branch of RAMS

ADVANCES in GERONTOLOGY

V o l u m e 2 2, № 2

Editorial Board:

V.N. Anisimov (St. Petersburg) — Editor-in-Chief
V.Kh. Khavinson (St. Petersburg) — Vice-Editor-in-Chief
V.S. Baranov (St. Petersburg)
A.I. Gaziev (Pushchino)
A.D. Nozdrachev (St. Petersburg)
A.M. Olovnikov (Moscow)
P.A. Vorobiev (Moscow)
Yu.P. Nikitin (Novosibirsk)

International Advisory Board:

A.L. Azin (Yoshkar-Ola)	I.M. Kvetnoy (St. Petersburg)
A.V. Arutjunyan (St. Petersburg)	L.B. Lazebnik (Moscow)
A.L. Arieu (St. Petersburg)	A.I. Martynov (Moscow)
V.V. Bezrukov (Kiev)	M.A. Paltsev (Moscow)
M. Davidovich (Beograd)	M. Passeri (Parma)
M.I. Davydov (Moscow)	R.J. Reiter (San Antonio)
C. Francheschi (Bologna)	G.S. Roth (Baltimore)
V.T. Ivanov (Moscow)	V.N. Shablin (Moscow)
N.N. Kipshidze (Tbilisi)	V.P. Skulachev (Moscow)
T.B.L. Kirkwood (Newcastle)	J. Troisi (Malta)
V.K. Koltover (Chernogolovka)	J. Vijg (San Antonio)
F.I. Komarov (Moscow)	R. Weindruch (Madison)
O.V. Korkushko (Kiev)	T. von Zglinicki (Newcastle)
E.A. Korneva (St. Petersburg)	O.G. Yakovlev (Samara)
G.P. Kotelnikov (Samara)	A.I. Yashin (Durham)

Published since 1997

Indexed in Index Medicus / MEDLINE

St. PETERSBURG • 2009

УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ

Т о м 2 2, № 2

Редакционная коллегия:

В.Н. Анисимов	(Санкт-Петербург) — главный редактор
В.Х. Хавинсон	(Санкт-Петербург) — заместитель главного редактора
В.С. Баранов	(Санкт-Петербург)
П.А. Воробьев	(Москва)
А.И. Газиев	(Пушино)
Ю.П. Никитин	(Новосибирск)
А.Д. Ноздрачев	(Санкт-Петербург)
А.М. Оловников	(Москва)

Редакционный совет:

А.Л. Азин	(Йошкар-Ола)	О.В. Коркушко	(Киев)
А.В. Арутюнян	(Санкт-Петербург)	Е.А. Корнева	(Санкт-Петербург)
А.Л. Арьев	(Санкт-Петербург)	Г.П. Котельников	(Самара)
В.В. Безруков	(Киев)	Л.Б. Лазебник	(Москва)
Р. Вейндрук	(Мэдисон)	А.И. Мартынов	(Москва)
Я. Вийг	(Сан-Антонио)	М.А. Пальцев	(Москва)
М. Давидович	(Белград)	М. Пассери	(Парма)
М.И. Давыдов	(Москва)	Р.Дж. Рейтер	(Сан-Антонио)
Т. фон Зглиницки	(Ньюкасл)	Дж. С. Рот	(Балтимор)
В.Т. Иванов	(Москва)	В.П. Скулачев	(Москва)
И.М. Кветной	(Санкт-Петербург)	Дж. Троици	(Мальта)
Н.Н. Кипшидзе	(Тбилиси)	К. Франчески	(Болонья)
Т.Б.Л. Кирквуд	(Ньюкасл)	В.Н. Шабалин	(Москва)
В.К. Кольтовер	(Черноголовка)	О.Г. Яковлев	(Самара)
Ф.И. Комаров	(Москва)	А.И. Яшин	(Дурэм)

Выходит с 1997 г.
Индексируется Index Medicus / MEDLINE с 2001 г.

Успехи геронтологии. Санкт-Петербург: Эскулап, 2009. Т. 22. № 2. 184 с., ил.

Издается при поддержке Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии Северо-Западного отделения РАМН и фонда «Наука за увеличение продолжительности жизни»

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук

Журнал зарегистрирован Министерством Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. ПИ № 77-12995 от 19 июня 2002 г.

Адрес редакции: 197758 Санкт-Петербург, Песочный-2, ул. Ленинградская, 68,
НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова, проф. В.Н. Анисимову.
Тел. (812) 596-8607. Факс (812) 596-8947
e-mail: aging@mail.ru, anisimov2000@mail.ru

197110 Санкт-Петербург, Левашовский пр., 12, издательство «Эскулап», тел. (812) 542 4045.
Лицензия ИД № 04402 от 29.03.2001 г.

Подписано в печать 22.11.2008 г. Формат бумаги 60×90¹/₈. Печать офсетная. Печ. л. 23.

Отпечатано с готовых диапозитивов в типографии издательства «Левша. Санкт-Петербург».
197376 Санкт-Петербург, Аптекарский пр., 6.

<p><i>Голубев А. Г.</i> Проблемы обсуждения вопроса о возможности подходов к построению общей теории старения. II. Параметаболическая теория старения</p>	205	<p><i>Golubev A. G.</i> The issue of feasibility of a general theory of aging. II. The Parametabolic Theory of Aging</p>
<p><i>Трубицын А. Г.</i> Механизм феноптоза: I. Возрастное снижение общего уровня синтеза белков вызывается запрограммированным затуханием биоэнергетики</p>	223	<p><i>Trubitsin A. G.</i> The mechanism of phenoptosis: I. Age-dependent decrease of the overall rate of protein synthesis is caused by the programmed attenuation of bio-energetics</p>
<p><i>Макрушин А. В.</i> Старение и канцерогенез — атавистические процессы, унаследованные от модульных предков: гипотеза</p>	228	<p><i>Makrushin A. V.</i> Senescence and cancerogenesis as atavistic processes inherited from modular ancestors</p>
<p><i>Гладышев Г. П.</i> Что такое жизнь с точки зрения биологической физической химии</p>	233	<p><i>Gladyshev G. P.</i> What is life? Bio-physical perspectives</p>
<p><i>Анисимов В. Н., Забежинский М. А., Попович И. Г.</i> Модели и методы изучения геропротекторной активности фармакологических препаратов</p>	237	<p><i>Anisimov V. N., Zabezinski M. A., Popovich I. G.</i> Models and methods of evaluation of geroprotective activity of pharmacological drugs</p>
<p><i>Брушков А. В., Мельников В. П., Суховей Ю. Г., Грива Г. И., Репин В. Е., Каленова Л. Ф., Бреннер Е. В., Субботин А. М., Трофимова Ю. Б., Танака М., Катаяма Т., Утсуми М.</i> Реликтовые микроорганизмы криолитозоны как возможные объекты геронтологии</p>	253	<p><i>Brouchkov A. V., Griva G. I., Melnikov V. P., Sukhovei Yu. G., Repin V. E., Kalenova L. F., Brenner E. V., Subbotin A. M., Trofimova Yu. B., Tanaka M., Katayama T., Utsumi M.</i> Relict microorganisms of cryolithozone as possible objects of gerontology</p>
<p><i>Божков А. И., Длубовская В. Л., Дмитриев Ю. В., Мешайкина Н. И., Малеев В. А., Климова Е. М.</i> Возможная роль «метаболической памяти» в формировании ответной реакции на стресс-факторы у молодых и взрослых организмов</p>	259	<p><i>Bozhkov A. I., Dlubovskaya V. L., Dmitriev Yu. V., Meshaikina N. I., Maleev V. A., Klimova E. M.</i> Supposed role of «metabolic memory» in formation of response reaction to stress-factors in young and adult organisms</p>
<p><i>Берштейн Л. М.</i> Взаимоотношения рака гормонально-зависимых тканей и других основных неинфекционных заболеваний: возрастной аспект</p>	269	<p><i>Berstein L. M.</i> Interrelations of cancer of hormone dependent tissues and other noncommunicable diseases: look through the window of age and aging</p>
<p><i>Ямшанов В. А.</i> Эволюционная роль оксида азота в проявлении циркадианной активности и защите организма от космических излучений</p>	282	<p><i>Yamshanov V. A.</i> The evolutionary role of nitric oxide in circadian activity and defense of the organism from cosmic rays</p>
<p><i>Ершов К. И., Русова Т. В., Фаламеева О. В., Садовой М. А., Айзман Р. И., Колосова Н. Г.</i> Гликозаминогликаны костного матрикса при развитии остеопороза у преждевременно стареющих крыс OXYS</p>	285	<p><i>Ershov K. I., Rusova T. V., Falameeva O. V., Sadovoy M. A., Aizman R. I., Kolosova N. G.</i> Bone matrix glycosaminoglycans and osteoporosis development in early aging OXYS rats</p>

- | | | |
|--|-----|--|
| <p><i>Реброва Т. Ю., Афанасьев С. А., Медведева О. Д.</i>
Особенности перекисного окисления липидов у крыс разного возраста при постинфарктном кардиосклерозе</p> | 292 | <p><i>Rebrova T. Yu., Afanasjev S. A., Medvedeva O. D.</i>
Features of lipid peroxidation in rats of different age with postinfarction cardiosclerosis</p> |
| <p><i>Анисимов С. В.</i>
Клеточная терапия болезни Паркинсона: III. Применение неонатальных, фетальных и эмбриональных стволовых клеток</p> | 296 | <p><i>Anisimov S. V.</i>
Cell therapy for Parkinson's disease: III. Neonatal, fetal and embryonic stem cell-based applications</p> |
| <p><i>Харитонов Т. В., Козина Л. С., Захарчук А. Г.</i>
Некоторые показатели липидного обмена и антиоксидантной защиты у пожилых больных с артериальной гипертензией</p> | 316 | <p><i>Kharitonova T. V., Kozina L. S., Zakharchuk A. G.</i>
Some indices of lipids metabolism and oxidant profile in geriatric patients with arterial hypertension</p> |
| <p><i>Помазкин В. И.</i>
Влияние возраста на качество жизни пациентов с кишечными стомами</p> | 322 | <p><i>Pomazkin V. I.</i>
Influence of age on quality of life of patients with intestinal stoma</p> |
| <p><i>Люттов Р. В.</i>
Заболеваемость раком желудка и его рецидивы у лиц разного возраста</p> | 326 | <p><i>Ljutov R. V.</i>
Morbidity of stomach cancer and its relapse in patients of different age</p> |
| <p><i>Матвеева А. С.</i>
Синдром врожденной расщелины нёба у лиц пожилого возраста</p> | 330 | <p><i>Matveeva A. S.</i>
Cleft palate syndrome in elderly patients</p> |
| <p><i>Матвеева А. С., Янов Ю. К.</i>
Влияние синдрома врожденной расщелины нёба на качество жизни лиц пожилого возраста</p> | 333 | <p><i>Matveeva A. S., Yanov Yu. K.</i>
Effect of cleft palate syndrome on quality of life of elderly patients</p> |
| <p><i>Пятин В. Ф., Широлапов И. В., Никитин О. Л.</i>
Реабилитационные возможности вибрационной физической нагрузки в геронтологии</p> | 337 | <p><i>Pyatin V. F., Shirolapov I. V., Nikitin O. L.</i>
Vibration physical exercises as the rehabilitation in gerontology</p> |
| <p><i>Фомина О. Г.</i>
Занятия физическими упражнениями в воде с женщинами пожилого возраста как средство улучшения физической работоспособности и коррекции телосложения</p> | 343 | <p><i>Fomina O. G.</i>
Active exercises in water for advanced age women as the way to improve their physical workability and to correct body</p> |
| <p><i>Савенко М. А., Гаврилов Д. Н., Хохлов И. Н.</i>
Особенности двигательного режима людей пожилого возраста</p> | 348 | <p><i>Savenko M. A., Gavrilov D. N., Khokhlov I. N.</i>
Moving regime peculiarities of senior age people</p> |
| <p><i>Чалисова Н. И., Романов О. Е., Морозова П. Ю., Балькина Н. А., Лесняк В. В., Сухонос Ю. А., Жекалов А. Н.</i>
Модулирующее влияние экстрактов из рогов сайгаков разного возраста на органотипическую культуру лимфоидной ткани</p> | 351 | <p><i>Chalisova N. I., Romanov O. E., Morozova P. Yu., Balikina N. A., Lesnyak V. V., Sukhonos Yu. A., Zhekalov A. N.</i>
The modulating effect of the horn extract from the saiga of different age on the organotypic lymphoid tissue culture</p> |
| <p><i>Пирогов А. Л., Альтман Д. А., Ермак Е. М., Давыдова Е. В.</i>
Плейотропные эффекты малых доз симвастина у пациентов старческого возраста с проявлениями хронической сердечной недостаточности</p> | 356 | <p><i>Pirogov A. L., Altman D. A., Ermak E. M., Davydova E. V.</i>
Pleiotropic effects of small doses simvastatin in patients of senile age with chronic heart failure</p> |

<i>Толчёнов Б. А., Н. В. Кутузова</i> Медико-социальная помощь немобильным больным пожилого возраста в условиях мегаполиса	364	<i>Tolchyonov B. A., Kutuzova N. V.</i> Medical-social support to the immobile ill elderly living in a mega polis
<i>Процаев К. И., Ильницкий А. Н., Медведев Д. С., Алтухов А. А., Аксенов Д. В., Сovenko Г. Н., Бурименко Е. Н.</i> Место и роль КВЧ-терапии в медицинской реабилитации пожилых больных с хрониче- ской обструктивной болезнью легких	368	<i>Prashchayeu K. I., Ilnitski A. N., Medvedev D. S., Altuchov A. A., Aksyonov D. V., Sovenko G. N., Buri- menko E. N.</i> The use of the short-wave therapy in rehabilita- tion of elderly patents with chronic obstructive pulmonary disease
<i>Иванов С. В.</i> Рецензия. — Москалёв А. А. Старение и гены. СПб.: Наука, 2008.	372	<i>Ivanov S. V.</i> Book review. — Moskalev A. A. Aging and genes. SPb, 2008.
<i>Попович И. Г.</i> Рецензия. — Алишев Н. В., Вашкевич А. А., Драбкин Б. А., Николаева Н. А., Шубик В. М. Геронтологические проблемы ветеранов подразделений особого риска. СПб., 2008.	375	<i>Popovich I. G.</i> Book review. — Alishev N. V., Vashkevich A. A., Drabkin B. A., Nikolaeva N. A., Shubik V. M. Gerontological problems in veterans of special risk subdivisions. SPb., 2008.

В журнале № 4 за 2008 г. в статье «Генетические и клинико-патологические особенности рака молочной железы у больных с сохраненной менструальной функцией и в менопаузе» на с. 651 по техническим причинам произошла ошибка в табл. 2, которую следует читать так:

Таблица 2

Полиморфизм исследуемых генов у больных РМЖ в зависимости от состояния менструального цикла

Генотип	Абс. число (%)			
	Контрольная группа	Менструальный статус		
		сохранен (35 лет и старше)	менопауза	
Ген MTHFR (C677T)				
CT	62/139 (44,6 %)	27/99 (27,3 %) <i>p</i> (контроль)=0,0064 <i>OR</i> *=0,47 (0,26–0,84)	82/188 (43,6 %) <i>p</i> (сохранен)=0,007	
CC	63/139 (45,3 %)	65/99 (65,6 %) <i>p</i> (контроль)=0,002 <i>OR</i> =2,31 (1,31–4,07)	91/188 (48,4 %) <i>p</i> (сохранен)=0,005	
TT	14/139 (10,1 %)	7/99 (7,2 %)	15/188 (8,7 %)	
Ген DHFR (del19)				
12	72/139 (39,6 %)	40/99 (40,4 %) <i>p</i> (контроль)=0,08	105/188 (55,8 %) <i>p</i> (сохранен)=0,01	
11	47/139 (34,5 %)	35/99 (35,4 %)	59/188 (31,4 %)	
22	20/139 (14,4 %) <i>p</i> (контроль)=0,05	24/99 (24,2 %) <i>OR</i> =1,9 (0,94–3,88)	24/188 (8,7 %) <i>p</i> (сохранен)=0,01	
Ген IL-18 (-607)C/A				
CA	159/293 (54,3 %)	42/84 (50 %)	76/170 (44,7 %) <i>p</i> (контроль)=0,04 <i>OR</i> =0,68 (0,45–1,01)	
CC	105/293 (35,8 %)	36/84 (42,9 %)	85/170 (50 %) <i>p</i> (контроль)=0,0028 <i>OR</i> =1,79 (1,2–2,68)	
AA	29/293 (9,9 %)	6/84 (7,2 %)	9/170 (5,3 %)	
Ген TP53 Сочетание генотипов (интрон 3, dup 16-экзон 4, Arg72Pro-интрон 6, Msp1)				
w/w-Arg/Arg-w/w	63/186 (33,9 %)	18/41 (43,9 %)	38/73 (52,1 %) <i>p</i> (контроль)=0,0069 <i>OR</i> =2,12 (1,18–3,82)	
w/w-Arg/Pro-w/w	45/186 (24,2 %)	7/41 (17,1 %)	15/73 (20,5 %)	
w/dup16-Arg/Pro-w/w	15/186 (8,1 %)	2/41 (4,9 %)	0 (0/73) <i>p</i> (контроль)=0,0075	
w/dup16-Arg/Pro-w/m	13/186 (7,0 %)	4/41 (9,8 %)	7/73 (9,6 %)	
Ген BRCA1-5382insC				
Генотип	Менструальный статус			
	сохранен (общая группа)	сохранен (до 35 лет)	сохранен (35 лет и старше)	Менопауза
11	102/109(93,6%)	8/11 (72,7%)	94/98 (95,9%)	183/186 (98,4%)
12	7/109(6,4%) <i>p</i> (менопауза)=0,03 (Fisher)	3/11 (27,3%) <i>p</i> (менопауза)=0,002 (Fisher)	4/98 (4,1%) <i>p</i> (сохранен до 35 лет)=0,019 <i>p</i> (менопауза)=0,38	3/186 (1,6%)

**OR* — соотношение шансов (odds ratio)

Приносим извинения авторам статьи: В. М. Перельмутеру, М. В. Завьяловой, С. В. Вторушину, Е. М. Слонимской, Н. Г. Крицкой, Е. Ю. Гарбукову, Н. В. Литвякову, М. Н. Стахеевой, Н. Н. Бабьшикиной, Е. А. Малиновской, Е. В. Денисову, Е. С. Григорьевой, М. С. Назаренко, С. В. Сенникову, Е. П. Горевой, В. А. Козлову, М. И. Воеводе, В. Н. Максимову, В. А. Белявской, Н. В. Чердынцевой.

А. Г. Голубев

ПРОБЛЕМЫ ОБСУЖДЕНИЯ ВОПРОСА О ВОЗМОЖНОСТИ ПОДХОДОВ К ПОСТРОЕНИЮ ОБЩЕЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ II. ПАРАМЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ

НИИ экспериментальной медицины РАМН, 197376 Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12; e-mail: lxglbv@rambler.ru

Живые организмы содержат молекулы, обеспечивающие выполнение биологических функций, вместе со всеми химическими свойствами этих молекул, а не только с теми, которые нужны. Нужные свойства эксплуатируются ферментативным катализом. Проявления ненужных свойств, которые сопровождают ферментативные процессы, могут быть не только нейтральными, но и вредными. Накопление повреждений, вызываемых такими параметаболическими процессами, приводит к снижению жизнеспособности, известному как старение. Другим химическим наследием жизни является экспоненциальная зависимость смертности от возраста, которая сложилась в результате того, что у мультимолекулярных пребиотических агрегатов роль основной переменной в уравнении Аррениуса для зависимости скорости их распада от температуры перешла к активационному барьеру, который снижался в результате параметаболических процессов. Такая зависимость сдвигает проявления параметаболических процессов в виде их влияния на смертность к поздним возрастам. Математическое моделирование показывает, что в этом случае эволюционное повышение жизнеспособности видов за счет новых функций, обеспечиваемых новыми молекулами, может сопровождаться ускорением снижения жизнеспособности в течение жизни у отдельных организмов и сокращением срока существования их когорт, но при этом эффективность вложения ресурсов в потомство возрастает, что является главным признаком, по которому в эволюции происходит положительный отбор.

Ключевые слова: старение, смертность, продолжительность жизни, эволюция, метаболизм

В биологии ничто не имеет смысла иначе, чем в свете эволюционной теории.

Т. Добжанский

1. Химия против биологии

Зависимость смертности живых объектов от возраста в среднем возрастном диапазоне характеризуется непрерывным ускорением, и из всех относительно простых функций, допускающих биологически осмысленную интерпретацию небольшого числа параметров, ее лучше всего аппроксимирует так называемый закон Гомпертца—Мэйкхема [1, 7, 8, 58, 73]:

$$\mu(t) = C + \lambda \cdot e^{\gamma t}. \quad (1)$$

Предложена обобщенная форма этого закона (ОГМ) [8]:

$$\mu(t) = C(t) + \Lambda \cdot e^{-E(t)}, \quad (2)$$

которая интерпретирована как закон зависимости смертности не от возраста, а от жизнеспособности, и редуцируется к каноническому закону Гомпертца—Мэйкхема (КГМ) при линейной зависимости жизнеспособности от возраста, $E(t) = E_0 - \gamma t$, в каковом случае наблюдаемый возраст просто является коррелятом ненаблюдаемой жизнеспособности. Предполагается, что ОГМ является результатом того, что процесс возникновения жизни из химического мира сопровождался тем, что в уравнении Аррениуса

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{R \times T}}, \quad (3)$$

описывающем зависимость скорости распада молекул от температуры, роль основной переменной при переходе от молекул к пребиотическим мультимолекулярным конгломератам перешла от температуры к активационному барьеру. Таким образом, ОГМ является не результатом биологической эволюции, а своего рода химическим наследием биологии и одним из условий, в которых действовала биологическая эволюция. Ниже это условие будет рассмотрено подробнее.

Первое, что должны были делать пребиотические мультимолекулярные объекты в условиях их непрерывного разрушения, это как-то сохранять способ своего мультимолекулярного существования. Для этого есть только три возможности: убыль объектов может предотвращаться, благодаря их (1) прочности, или восполняться, благодаря их (2) самовозникновению или (3) самовоспроизведению. Вариант изготовления Высшими Силами рассматриваться не будет. Прочность и самовозникновение свойственны, например, булыжникам и дождевым каплям, соответственно, причем тем и другим, чьи популяции существуют на Земле без

особых изменений миллиарды лет, свойственна еще и достаточная простота. Будучи не столь прочными, как камни, и не столь простыми, как капли, пребиотические объекты восполняли свою убыль самовоспроизведением, то есть сохранять свой способ существования могли только те, у которых появилась такая способность. Оставив на рассмотрение специалистов [60, 63] вопрос о том, как она могла возникнуть в эволюции, отметим, воспользовавшись формулировкой Ф. Жакоба [44], что, в отсутствие Высших Созидательных Сил, эволюция «действует подобно барахольщику (tinkerer), который подбирает все, что попадется, будь то веревочки, деревяшки, картонки, и норовит все это к чему-нибудь приспособить. Для инженера реализация его задачи предусматривает наличие точного проекта и соответствующих исходных материалов. В отличие от средств работы инженера, средства барахольщика не определяются проектом. Все, что они имеют общего между собой, это “мало ли, вдруг для чего-нибудь пригодятся”. На что? Это зависит от возможностей».

Для пребиотических объектов роль таких «деревяшек» и «веревочек» играли молекулы. Случайный перебор приводил к преобладанию все более удачных вариантов. Например, переход от РНК к ДНК для хранения генетической информации, возможно, был связан с тем, что ДНК более устойчива к гидролизу. Другим примером может быть глюкоза, которая была отобрана из всех гексоз на ту роль, которую она играет в метаболизме, вероятно, потому, что равновесие между ее таутомерными формами больше сдвинуто к циклической, которая, в отличие от линейной, не способна образовывать аддукты с ДНК и белками и тем нарушать их функции [23].

Биология, конечно, не сводится к химии, но при этом ничто из химии в биологии не исчезает, даже если ее нейтрализует какая-либо еще химия в соответствии с биологической организацией. Биологические системы включают химические молекулы вместе со всеми их свойствами, а не только с теми, которые используются в биологических функциях, а неиспользуемые потенциалы могут быть вредны не только своей бесполезностью, но и причинять прямой ущерб [3, 15]. Нужные потенциалы используются оптимальным образом в ферментативных реакциях, тогда как ненужные не катализируются ферментами, но никуда не деваются и обычно сопровождают ферментативные метаболические процессы. Предложено квалифицировать такие неферментативные процессы как параметаболические

[3]. Кислород и его активные формы представляют собой самые известные и, по крайней мере для аэробных форм жизни, самые важные примеры параметаболических явлений [31]. Но кислород в этом смысле не уникален. Вода гидролизует нуклеиновые кислоты. Метилглиоксаль, параметаболический продукт гликолиза, образуется и может повреждать макромолекулы безо всякого участия кислорода. Многочисленные примеры такого рода расценены в [3, 4] как основа антагонистических плейотропных эффектов, постулированных Дж. Уильямсом в его теории эволюции старения [74]. В этом смысле, практически нет генов, которые лишены таких эффектов; они есть даже у тех, которые абсолютно необходимы для жизнеспособности. Например, любой ген, кодирующий фермент, участвующий в образовании глицеральдегид-3-фосфата в гликолизе или еще каком-либо процессе, имеет антагонистические плейотропные эффекты, реализующиеся через параметаболическое образование метилглиоксаля из глицеральдегид-3-фосфата.

Ближе к генам, в смысле механизмов реализации, находятся антагонистические плейотропные эффекты, являющиеся результатом склонности их белковых продуктов к агрегации, особенно в форме амилоидных фибрилл. Эта склонность более всего выражена в продуктах генов, функции которых связаны с гидрофобными взаимодействиями, например со встраиванием в мембраны (APP — amyloid precursor protein, белок-предшественник амилоидогенных пептидов, принимающих участие в патогенезе болезни Альцгеймера), с переносом липидов (аполипопротеины), тироксина (транстиретин). Интересно, что амилоидогенный потенциал транстиретина возрастал, а не снижался в эволюции позвоночных, возможно, в связи с необходимостью соответствовать изменениям распределения тироксина между обогащенной липидами средой увеличивающегося головного мозга и остальным организмом [67]. В таком случае повышенная амилоидогенность APP или панкреатического гормона амилина у людей при сравнении с мышами тоже может быть обратной стороной каких-то функциональных преимуществ [5]. Интересно и то, что в немногочисленных случаях, когда удалось провести аутопсию у лиц, умерших в возрасте более ста лет, практически всегда непосредственной причиной смерти был транстиретиновый амилоидоз миокарда [51].

Более отдалены от генов антагонистические плейотропные эффекты, выражающиеся в том, что

в клеточных популяциях накапливаются клетки, претерпевшие так называемое пролиферативное старение и неспособные к дальнейшей пролиферации. В клеточных культурах это выражается в существовании лимита Хэйфлика, предельно возможного числа удвоений культуры данных не трансформированных клеток в данных условиях [6]. Пролиферативное старение клеток можно рассматривать как дисфункциональную дифференциацию, возможную в результате взаимодействий между генами и их продуктами, участвующими в контроле клеточного цикла и поддержании целостности генома, и оно не обязательно связано с достижением какого-либо предустановленного предела длины теломер или еще чего-либо [35]. Одним из следствий такой интерпретации было предположение, что лимит Хэйфлика является коррелятом не продолжительности жизни (размеров во времени), а общего количества клеток тела (размер в пространстве) [6, 35], которое было подтверждено позже, хотя, вроде бы, и независимо [53, 68].

В любом случае такую антагонистическую плейотропию нельзя считать, как это принято (см. раздел 6), отсроченной в своем действии. На самом деле, парабиологические взаимодействия, ответственные за антагонистические плейотропные эффекты, начинаются, как только начинают действовать гены, участвующие в соответствующих метаболических путях. Но результаты антагонистических побочных эффектов генов накапливаются, в отличие от прямых эффектов, которые, однако, обеспечивают время для накопления. Поэтому правильней говорить о кумулятивных, а не о поздних антагонистических плейотропных эффектах.

Вышеизложенное складывается в теорию, а в теории старения самое главное — это как ее называть. Для вырисовывающейся здесь теории напрашивается название «парабиологическая». Она гласит, что любая биохимическая система содержит возможности для взаимодействий, которые не контролируются средствами этой системы. Эти взаимодействия лежат в основе антагонистических плейотропных эффектов генов и создают движущую силу старения. Добавление новых средств их контроля создает возможности для новых неконтролируемых взаимодействий. Здесь можно усмотреть соответствие с теоремой Геделя о неполноте, являющейся краеугольным камнем современных оснований математики [32] и, похоже, вообще естествознания [17]. Согласно этой теореме, любая система постулатов и способов построения взаимосвязей между ними (в данном случае это мета-

фора для системы взаимодействующих молекул) является неполной в том смысле, что содержит возможности для формулирования утверждений, которые невозможно ни доказать, ни опровергнуть (невозможно контролировать) средствами этой системы, а добавление новых постулатов (средств контроля) с целью доказать прежде недоказуемые утверждения создает возможности для формулирования новых недоказуемых утверждений (неконтролируемых взаимодействий). В этом смысле старение является результатом справедливости теоремы Геделя на примере системы биохимических взаимодействий. Это не только ограничивает возможность контролировать образование парабиологических продуктов, но также создает источник неконтролируемых флуктуаций внутренней среды, способных в крайних случаях уничтожить всю систему. Поэтому внутренняя среда организма может представлять для организма опасность не меньшей важности, чем внешняя среда, а набор биологических функций включает те, которые, с одной стороны, защищают живые системы от внутренних опасностей, а с другой — создают дополнительные проблемы. В разделе 3 будет показано, что они же могут служить объяснением линейности снижения функционального резерва организма, необходимость которого, вообще говоря, не самоочевидна.

2. Экспонента × парабиологизм = обобщенный закон Гомперца–Мэйкхем

Надо полагать, что причины смерти пребиотических объектов были весьма многочисленными и эффективными. Во всяком случае, ни один из таких объектов не сохранился до сих пор. Обозначим число этих причин через i . Каждая причина в пределах этого числа, флуктуация j -того типа ($1 \leq j \leq i$), приводила к

$$k_j = e^{-\frac{E_j}{q_j}},$$

где k_j — смертность объектов, вызываемая флуктуациями j -того типа (при постоянном E_j и данной q_j параметр k_j превращается в константу скорости распада объектов); E_j — активационный барьер для разрушения объекта стрессами j -того типа или, другими словами, его сопротивляемость этим стрессам, или j -жизнеспособность; q_j — тот компонент жесткости среды, который обусловлен стрессами j -того типа (по аналогии с T в уравнении Аррениуса). В постоянных условиях и при постоянстве свойств объектов в пределах времени t_{max} их общая смертность будет

$$A = \sum_{j=1}^{j=i} e^{-\frac{E_j}{q_j}}$$

и когорты таких объектов будут вымирать в процессе первого порядка:

$$-dn/dt = A \cdot n(t); \text{ так что}$$

$$n(t) = n_0 \cdot e^{-\int_0^t A dt} = n_0 \cdot e^{-A \cdot t}.$$

В этом случае средний возраст однозначно определяется через A : $t_{mean} = 1/A$. Что до максимального возраста, то объекты, будучи пока еще неизменными, потенциально бессмертны, но их когорты являются счетными и конечными. Численность когорты ниже 1 не имеет физического (биологического) смысла, и можно считать, что после момента, когда $n(t) = 1$, когорта перестает существовать. Поэтому $t_{(n=1)}$ определяет максимальную продолжительность существования когорты. Численность когорты, исходно состоящей из n_0 неизменных (нестареющих) объектов, снизится до 1 к моменту времени $t(n) = \frac{\ln n_0}{A}$.

При таком определении максимальная продолжительность существования когорты должна зависеть от ее исходной численности при любой кинетике смертности, как оно и есть, например у людей [76]. Более строгое рассмотрение проблемы максимальной продолжительности жизни можно найти, например, в [14], где показано, со ссылками на теорию экстремальных значений, что при увеличении n_0 распределение t_{max} все более концентрируется вблизи от $t_{(n=1)}$.

Если объекты становятся лучше приспособленными к условиям существования, приобретая способность противостоять стрессам, скажем, l -того типа, это значит, что соответствующий активационный барьер повышается, и общую смертность можно представить как

$$\mu = A - e^{-\frac{E_l}{q_l}} + e^{-\frac{E_l}{q_l}} = C + e^{-\frac{E_l}{q_l}}, \quad (4)$$

где $C = A - e^{-\frac{E_l}{q_l}}$ и $E_l > E_p$, так что $\mu < A$.

В таком случае C представляет собой смертность от причин, возникающих вследствие таких сочетаний сил, которым объекты в принципе не могут сопротивляться. Любая встреча объекта с таким сочетанием приведет к смерти. Поэтому C зависит не от изменений в объектах, а только от изменений среды. Однако это не исключает возможности систематического изменения условий среды за время t_{max} , например, объекты могут терять подвижность или приобретать адгезивность и поэтому существовать во все более узком диапазоне условий.

Семантика параметра C всегда была проблематичной [24, 75]. Чаще всего C интерпретируется как привнесенная, внешняя (extrinsic) или случайная (accidental) смертность. Но несчастные случаи могут быть самыми разными по их непреодолимости. Падение самолета с высоты 10 км является, безусловно, непреодолимой флюктуацией условий существования пассажиров, независимо от их возраста, тогда как ДТП может привести к травме, при которой вероятность смертельного исхода зависит от количества повреждений, и распределение числа событий такого рода по силе травмы может быть экспоненциальным. Но сочетание обстоятельств ДТП может быть и таким, что качество травмы делает ее несовместимой с жизнью в любом возрасте. Возможны самые разные совпадения, способные убить любого представителя данного вида независимо от возраста. Едва ли можно классифицировать такие случаи, каждый из которых редок, потому-то устойчивость к ним и не возникла в эволюции. Но в сумме они могут быть достаточно частыми, чтобы не сбрасывать C со счета априорно даже в самой благоприятной среде обитания. Таким образом, C оказывается интегральной частью закона природы, а не произвольно вводимой константой, которую, вообще-то, можно использовать, а можно и вообще не использовать, как покажется удобней при обработке тех или иных данных.

По мере эволюционного приобретения живыми объектами все новых функций, обеспечиваемых все новыми биохимическими процессами, значение C становилось все меньше, зато увеличилось значение повышения смертности из-за снижения жизнеспособности, вызываемого параметаболическими процессами, сопровождающими осуществление этих функций.

Возможны два крайних исходных варианта зависимости накопления параметаболических повреждений от времени. В каждом случае скорость накопления зависит от количества необновляемого материала M , которым обеспечивается E_a и который все еще может быть поврежден, то есть остается все еще целым к моменту действия повреждающего фактора. При этом скорость D продукции параметаболических факторов повреждения может либо не зависеть от $M(t)$ (например, эти факторы производятся на том этапе взаимодействий, необходимых для выполнения данной функции, который происходит до участия M в них), что делает $-dE(t)/dt$ пропорциональным $E(t)$, либо D может быть примерно пропорциональной $M(t)$, если их производит сам M или какой-либо процесс, ли-

митируемый количеством M , и тогда $-dE(t)/dt$ становится пропорциональным $[E(t)]^2$. Эти два случая дадут:

(1) $E(t) = E_0 \cdot e^{-\alpha \cdot t}$ при постоянном D и

(2) $E(t) = \frac{E_0}{E_0 \cdot \alpha \cdot t + 1}$ при пропорциональ-

ности D по отношению к $E(t)$.

Но, какой бы ни была зависимость E от t , любые функции, не выходящие за пределы биологического правдоподобия, приводят, будучи помещенными на место экспоненты в ОГМ, к кривым дожития, имеющим настолько одинаковые формы, что, при надлежащих значениях параметров, они могут практически не отличаться друг от друга и от формы, которая соответствует КГМ (рис. 1). Формы кривых дожития (см. рис. 1, средняя и нижняя панели справа) сходны, несмотря на различия траекторий снижения жизнеспособности (справа сверху). Поколения могут исчерпываться раньше (справа сверху), чем функциональные возможности организмов, которые их составляют (слева сверху). Средние сегменты зависимостей смертности от возраста искривляются при увеличении C в случае канонического закона Гомпертца—Мэйкхема и спрямляются в двух других случаях, что приводит к сигмоидной форме, характерной для снижения смертности в позднем возрасте. Но эти два варианта хуже аппроксимируют реальные данные по смертности у людей не только в среднем возрасте, но и при включении поздних возрастов (не показано). Из-за такого сходства между кривыми дожития для разных воплощений ОГМ эволюционный переход от паттерна выживания, свойственного нестареющим организмам, к таким паттернам, которые возможны при старении, можно исследовать на примере любого конкретного случая. Ниже будет взят самый естественный и, вероятно, первичный вариант снижения жизнеспособности, когда утрачивается постоянная доля того, что осталось, то есть снижение происходит по экспоненте. Но, в отличие от того, что делалось прежде [20, 36], смертность определяется не обращением этой экспоненты, а помещением ее на место показателя степени в ОГМ:

$E(t) = E_0 \cdot e^{-\alpha t}$, поэтому

$$\mu = C + e^{-\frac{E_{t_0} \cdot e^{-\alpha t}}{q}}$$

Допустим для примера, что $n_0=1000$, $q=1$, $A=0,02$, а возникшая

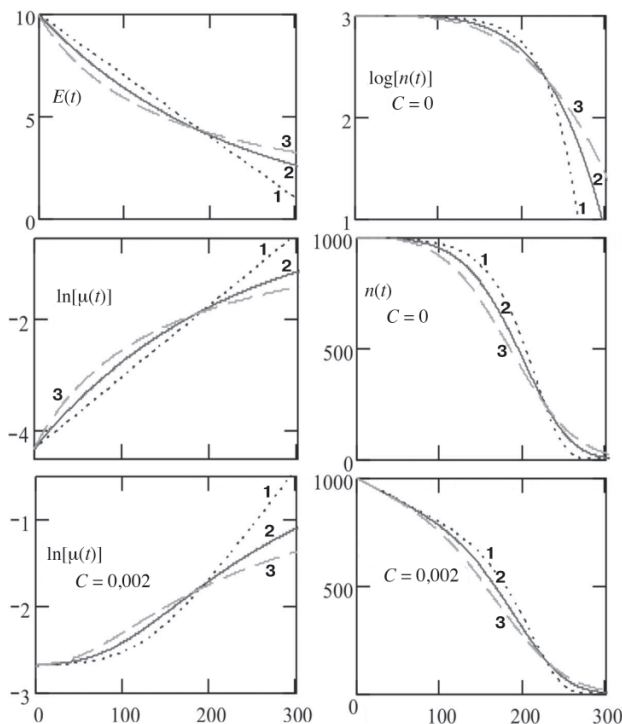


Рис. 1. Воплощения обобщенного закона Гомпертца—Мэйкхема при разных вариантах снижения жизнеспособности (во всех случаях $n_0=1000$ и $E_0=10$):

1 — канонический закон Гомпертца—Мэйкхема (линейное снижение E): $E(t)=E_0 - \alpha t$, $\alpha = 0,03$; 2 — случай 1 по тексту — экспоненциальное снижение жизнеспособности: $E(t) = E_0 \cdot e^{-\alpha t}$, $\alpha=0,0045$; 3 — случай 2 по тексту:

$$E(t) = \frac{E_0}{E_0 \cdot \alpha \cdot t + 1}, \alpha=0,0007$$

в эволюции функция защищает от причин смерти, ответственных за 0,25 % всей смертности, и снижает ее исходно в 1000 раз, но при этом выполнение функции вызывает параболические поврежде-

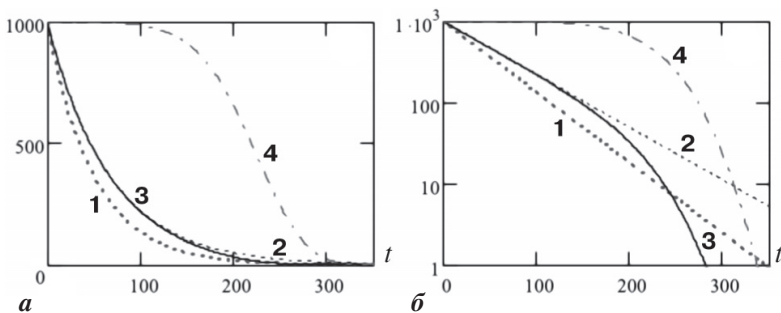


Рис. 2. Переход от паттернов дожития, свойственных отсутствию старения, к свойственным наличию старения: а — нетрансформированные графики; б — полулогарифмические графики

1 — исходные нестареющие организмы; 2 — организмы с 1000-кратным снижением смертности от причин 25% случаев исходной смертности; 3 — вариант 2 дополнен возрастным снижением функции, обеспечившей снижение смертности; 4 — вариант 3 дополнительно модифицирован сведением C к нулю (например, те же организмы перенесены в лабораторные условия)

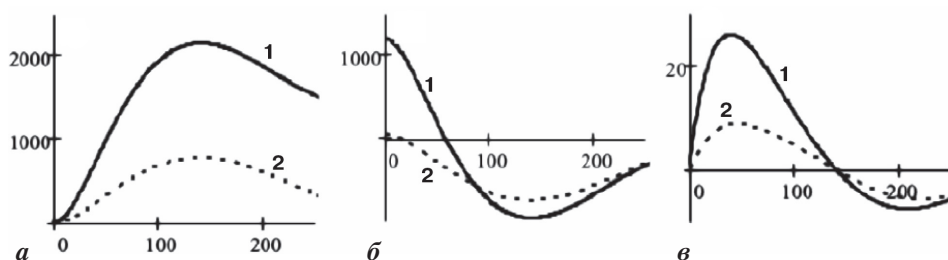


Рис. 3. Репродуктивные преимущества повышения исходной жизнеспособности, сопряженного со старением, при разных вариантах возрастного снижения репродуктивных функций: 1 — линейное снижение репродуктивных функций; 2 — экспоненциальное снижение с константой, составляющей 0,9 от константы снижения функций, обеспечивающих жизнеспособность

Примечание. Прибавки в потомстве отложены против (а) возраста, если репродукция возможна в течение всей взрослой жизни, или (б, в) против времени начала репродукции, если она возможна (б) в течение оставшейся жизни или (в) в течение короткого периода t (1 единица времени)

ния с константой скорости их накопления $\alpha=0,005$. Это соответствует $C=0,015$ и $\mu_0=0,015+5\cdot 10^{-6}$, так что $E_0=-\ln(5\cdot 10^{-6})$. Рис. 2 показывает, что это приводит к увеличению средней продолжительности жизни (от 50 до 63 единиц времени), что отражается увеличением площадей под соответствующими кривыми дожития (см. рис. 2, а), хотя максимальная продолжительность существования когорт снижается (от 345 до 285), как видно по пересечениям соответствующих полулогарифмических графиков с $n(t)=1$ (см. рис. 2, б). Такие же паттерны получены в рамках этой модели для линейного снижения функций в [7, 34].

Теперь рассмотрим с этих позиций главную биологическую функцию — производство потомства, которая определяется интегралом $\int_{t_1}^{t_2} F(t)n(t)dt$, где $F(t)$ (fecundity, плодовитость) представляет собой количество потомства, производимого в единицу времени. В исходных нестареющих организмах $F(t)$ постоянна. Для организмов с новоприобретенной способностью противостоять некоторым причинам смерти рассмотрим два случая: $F(t)$ снижается либо линейно, достигая нуля в момент t_{max} , либо по экспоненте так же, как $E(t)$. Каждый случай включает три варианта: возможности для размножения (определяемые как физиологически, так и внешними факторами) существуют (а) на протяжении всей жизни, (б) после некоторого возраста и (в) в течение некоторого относительно короткого периода (допустим, 1 единица времени). Рис. 3 показывает, что при линейном снижении способности к репродукции новая функция создает репродуктивные преимущества (несмотря на сниже-

ние срока существования когорты) в варианте (а), и дает такие преимущества в варианте (б), если репродуктивный возраст начинается в периоде до $1/3$ максимального срока существования когорты, и в варианте (в), если возможность для репродукции возникает в первую половину этого срока. Если плодовитость снижается по экспоненте с той же скоростью, что и все функции, репродуктивные преимущества отсутствуют (не показано).

Но достаточно снизить константу снижения плодовитости до 0,9 от константы снижения остальных функций, чтобы получить отчетливое репродуктивное преимущество в варианте (а), а также в варианте (в), если возможности для репродукции возникают в первую половину срока жизни когорты, причем оптимум приходится на $1/4$ этого срока.

Возможность того, что репродуктивные функции снижаются медленней остальных, иллюстрируется результатами полевых наблюдений за животными [21] и обсуждается ниже (раздел 3).

В целом же получается, что появившаяся в эволюции функция, даже если она приводит к старению и снижению максимальной продолжительности жизни, может увеличить эффективность вложения ресурсов в потомство, благодаря тому, что снижает потери ресурсов через организмы, которые погибают прежде, чем получают возможность вложить их в потомство. Эффективность вложения ресурсов в потомство считается главным показателем дарвиновской приспособленности и эволюционного успеха.

3. Эволюция смертности

После появления биологических функций, неизбежно сопровождающихся параметаболическими процессами, возникла новая возможность для снижения растраты ресурсов гибнущими организмами, а именно — уменьшение скорости снижения их способности противостоять причинам смерти, возможное при наличии средств защиты от повреждений, вызываемых этими процессами.

Функции защиты живых организмов от параметаболических повреждений подвержены таким

же повреждениям, как и любые другие функции. Известно множество примеров возрастного ослабления репарации ДНК, подавления образования побочных продуктов метаболизма, детоксикации, защиты от активных форм кислорода и азота, от карбонильных соединений и т. д. Эти примеры часто рассматривают как причины старения. Но для накопления повреждений достаточно, чтобы исходная эффективность защиты от них была ниже 100 %, и никакое дальнейшее снижение этой эффективности не требуется. Однако оно может быть весьма важным для старения не в смысле его существования вообще, а в смысле его динамики.

Поскольку защита от параметаболических повреждений является интегральной частью общей жизнеспособности, она должна коррелировать с ней, то есть с $E(t)$. С другой стороны, скорость снижения $E(t)$ должна находиться в обратной зависимости от способности противодействовать этому снижению. Такую ситуацию можно формализовать как:

$$-dE/dt = \alpha E(t) / \beta E(t), \quad (5)$$

откуда следует, что

$$-dE/dt = \alpha / \beta$$

и, таким образом,

$$E(t) = E_0 - (\alpha / \beta) \cdot t = E_0 - \gamma \cdot t. \quad (6)$$

Даже в отсутствии абсолютной синхронности между снижением общей жизнеспособности и способностью тормозить это снижение, они все равно будут иметь тенденцию к взаимному спрямлению. В идеале, когда t приближается к E_0 / γ , $E(t)$ стремится к нулю. Этот нуль означает полное исчерпание функционального резерва и, таким образом, соответствует тому, что можно назвать «ожидаемым предельным биологическим возрастом» (в отличие от предельного срока существования когорты). Это также означает, формально, что в этот момент $dE/dt = 0/0$. Возникающая неопределенность разрешается, как обычно, тем соображением, что в ряду $\alpha E(t) / \beta E(t)$ при $t \rightarrow E_0 \times \beta / \alpha$ любой член равен $\alpha / \beta = \gamma$, что придает члену при $t = E_0 / \gamma$ то же значение. После $t = E_0 / \gamma$ показатель жизнеспособности E становится меньше нуля, что лишено физического (биологического смысла) так же, как $n < 1$ в когорте лишено смысла.

Примечательно соотношение между этими моментами исчезновения двух биологических смыслов: судя по всему, параметры ОГМ настроены в эволюции так, что когорты обычно исчерпываются прежде, чем подходят к концу все функциональные резервы организмов, из которых состоят эти когорты (см. рис. 2, верхний ряд). Исключения

квалифицируются как генетические заболевания. Например, повреждение почек при синдроме Олпорта прерывает жизнь больных, когда функциональные возможности почек из-за истончения гломерулярных мембран оказываются полностью исчерпанными, что случается гораздо раньше исчерпания соответствующей общей когорты. То же относится к функциональным нарушениям из-за наследственных амилоидозов головного мозга.

Разумеется, все вышесказанное применимо только к популяциям с их усредненными глобальными параметрами. В отдельном организме примерно параллельное снижение вышеуказанного делимого и делителя приведет, кроме тенденции к взаимному спрямлению траекторий их снижения в среднем возрасте, ко все возрастающей неустойчивости частного по мере дальнейшего увеличения возраста.

В гипотетическом случае единственной функции, обеспечивающей защиту от причин смерти, снижению которой противостоит единственная функция защиты от параметаболических повреждений, из вышесказанного следует, что старение прекратится в момент $t = E_0 / \gamma$, потому что стареть дальше будет нечему, и дальнейшая смертность будет определяться суммой C и μ_L , достигнутой к этому времени. Это должно выразиться переходом от возрастающей к постоянной высокой смертности. Уменьшение, но постепенное, скорости нарастания смертности должно происходить и в случае $E(t) = E_0 \cdot e^{-\alpha t}$, использованном выше для моделирования эволюционного происхождения старения. Но эта функция хуже, чем КГМ, аппроксимирует кривые смертности современных организмов в среднем возрасте. Эволюция от этого, вероятно, первичного воплощения ОГМ могла быть связана с приобретением средств защиты от параметаболических повреждений и с переходом к нынешнему паттерну, характеризующемуся почти линейным снижением жизнеспособности, за которым следует не плавный переход, а перегиб траекторий смертности к дальнейшей динамике, которая не следует ни из какой предшествующей и может выглядеть весьма причудливо [41, 73].

Единственная биологическая функция — это, несомненно, непомерное упрощение, но сколь бы многочисленными они ни были, рассуждения вокруг уравнения (4) применимы к любой из них. Поэтому эволюционное появление любой из них будет приводить к

$$\mu = A - (e^{-\frac{E_L}{q_l}} + e^{-\frac{E_m}{q_m}} + \dots) + (e^{-\frac{E_L}{q_l}} + e^{-\frac{E_M}{q_m}} + \dots).$$

Линейное снижение каждой биологической функции должно приводить к соответствующему экспоненциальному возрастанию смертности от причин, которым противодействует эта функция. В более общем смысле, любое снижение жизнеспособности будет приводить к смертности через ОГМ, в котором функция снижения биологической функции играет роль показателя степени, что должно сближать формы траекторий изменений парциальных смертностей (см. рис. 1). Дж. Уильямс [74] выдвинул эволюционные обоснования того, что парциальные возрастные ослабления функций должны к тому же еще и синхронизироваться естественным отбором: действительно, противодействие ослаблению любой функции требует ресурсов, поэтому более сильное торможение ослабления любой из них в сравнении с остальными приведет к ненужному расходу этих ресурсов. Кроме того, высокая степень целостности живых систем должна приводить к тому, что ослабление любой функции сказывается практически на всех остальных, и это является еще одним фактором синхронизации их ослабления. Так или иначе, но смертность от основных причин в человеческих популяциях растет, примерно, параллельным образом [29].

Вышесказанное не исключает отклонений от синхронности в любом отдельном организме. Таким образом, живой организм предстает как своего рода



Рис. 4. Возрастные изменения в системе нейроэндокринной регуляции секреции половых стероидов

когорты функций, каждая из которых защищает от некоторых причин смерти и снижается с некоторой скоростью. Из-за отсутствия абсолютной синхронности в снижении, переход такой когорты функций через период времени, включающий в себя моменты $t = E_0 \cdot \beta / \alpha$ для каждой функции, будет сглажен. В этом периоде живой организм будет терять все больше своих функций и становиться все более незащищенным против растущего числа внешних и внутренних причин смерти и болезней. В той мере, в какой начало заболевания можно считать результатом утраты функции, которая защищает от него, растущее число сосуществующих болезней в постаревшем организме [47] может быть свидетельством этой потери все большего числа функций. Возможно, первые события такого рода знаменуют собой то, что воспринимается как наступление старости. В когорте при этом будет происходить постепенный переход к практически нежизнеспособным и, соответственно, нестареющим организмам. Показано, что вымирание самых старших возрастных групп у китайцев соответствует кинетике первого порядка [71], то есть отсутствию изменений в вымирающих организмах. Однако следует еще раз подчеркнуть, что параметры ОГМ настроены в эволюции так, что когорты обычно исчерпываются раньше, чем подходят к концу все функциональные резервы организмов, которые их составляют.

4. Коллизия сложности и ложности

Еще одним чрезмерным упрощением является допущение независимости биологических функций друг от друга. На самом деле, эволюция сопровождалась появлением множества регуляторных отрицательных и положительных обратных связей между функциями, что сделало их реальные возрастные изменения сильно зависящими от переплетения этих связей, самые яркие примеры чему дает нейроэндокринная система (рис. 4).

Известно, что максимальная способность всех стероидогенных тканей продуцировать конечные продукты стероидогенеза сильно снижается в ходе старения. Этот спад может быть побочным результатом эволюционного продолжения стероидогенных метаболических путей к новым конечным продуктам, которые лучше подходят к выполнению сигнальных функций, но при этом являются псевдосубстратами для ферментов, катализирующих промежуточные этапы стероидогенеза. Параметаболические взаимодействия между этими псевдосубстратами и ферментами, ведущие к генерации активных форм кислорода, были про-

демонстрированы экспериментально [42, 64] и обсуждены в рассматриваемом аспекте в [2, 3]. Максимальная способность к синтезу полипептидов в организме при старении тоже снижается, но некоторые пептидные гормоны вовлечены в отрицательные обратные связи регуляции стероидогенеза, поэтому их реальная продукция может повышаться из-за его ослабления, примером чему может быть выраженное усиление секреции фолликулостимулирующего гормона у стареющих млекопитающих [19, 77]. Другой возможной причиной этого усиления может быть снижение функций гипоталамических центров, через которые осуществляются отрицательные обратные связи в этой системе регуляторных отношений. Снижение этих гипоталамических функций может зависеть от параметаболических реакций аутоокисления катехоламиновых нейромедиаторов в этих центрах [2, 3]. В результате таких взаимоотношений повышение секреции тропных гормонов оказывается более выраженным, чем оно могло бы быть при отсутствии изменений в гипоталамусе. Конечным и, может быть, даже полезным результатом оказывается то, что снижение реального стероидогенеза и функций, зависящих от половых стероидов, оказывается замедленным вплоть до полного исчерпания функциональных резервов в каком-либо звене этой системы отношений, которое сопровождается резкими изменениями, происходящими у млекопитающих, включая людей (менопауза), задолго до достижения максимальной продолжительности существования их когорт.

Таким образом, взаимные влияния постепенного снижения максимальных возможностей отдельных функций могут приводить к столь выраженной возрастной специфичности функциональных изменений, что это может создавать впечатление сложной программы, которая на самом деле является ложной. Видимая упорядоченность возрастных изменений при старении совершенно отлична от истинно запрограммированных возрастных изменений, происходящих при развитии, как по эволюционному происхождению, так и по способу реализации, и поэтому для упорядоченности старения больше подойдет термин квазипрограмма.

Проявления вышеописанных и других факторов можно найти в многочисленных экспериментальных и эпидемиологических исследованиях, демонстрирующих разнообразные особенности паттернов смертности. Эти результаты часто служат основанием для отказа от закона Гомпертца—Мэйкхема как парадигмы для их анализа, но в своей обобщен-

ной форме он может служить основой для анализа каждого интересного случая, будучи дополненным, а не замененным соответствующими биологически интерпретируемыми параметрами.

Рассмотрение экспериментальных результатов в терминах параметров аналитических аппроксимаций наблюдаемой кинетики смертности осуществлялось, как правило, на основании «чистого» закона Гомпертца. Даже в этом более простом случае препятствием для применения такого подхода была малая численность экспериментальных групп [28, 80], но эта проблема является, скорее, практической, чем концептуальной.

5. Слабость силы, или компенсационный эффект смертности

Загадочной особенностью зависимостей смертности от возраста в человеческих популяциях является так называемая корреляция Стрелера—Милдвана, или компенсационный эффект смертности. На словах она описывается так: чем ниже исходная смертность (выше исходная жизнеспособность), тем выше скорость старения. Этот эффект, впервые выявленный при сравнении разных стран [70], еще более заметен при анализе разных исторических периодов в какой-либо одной стране [65, 78]. Объяснение ему должна давать любая теория старения, претендующая на статус общей [56, 61].

Отмечалось [1, 7, 34], что этот эффект может, по меньшей мере отчасти, представлять собой артефакт того, что данные, соответствующие закону Гомпертца—Мэйкхема, анализируют по «чистому» закону Гомпертца, то есть параметр C по умолчанию всегда приравнивают к нулю. Ясно, что такой артефакт важен, когда значения C на самом деле высоки и сильно различаются. Также он может играть роль для анализа разных исторических периодов при значительных изменениях в условиях существования, как в первые две трети XX в. в развитых странах.

Тем не менее, корреляция между $\ln l$ и γ остается удивительно сильной, даже если сравнивать развитые страны в период 2000—2004 гг. по полной модели Гомпертца—Мэйкхема и, таким образом, видеть, что параметр C в этом случае настолько мал, что им действительно можно пренебречь. В этом анализе и всех последующих для сравнения аппроксимаций данных разными моделями и для определения их параметров использовали программу TableCurve2D (Systat Corp.), которая среди более чем 3000 встроенных функций содержит и

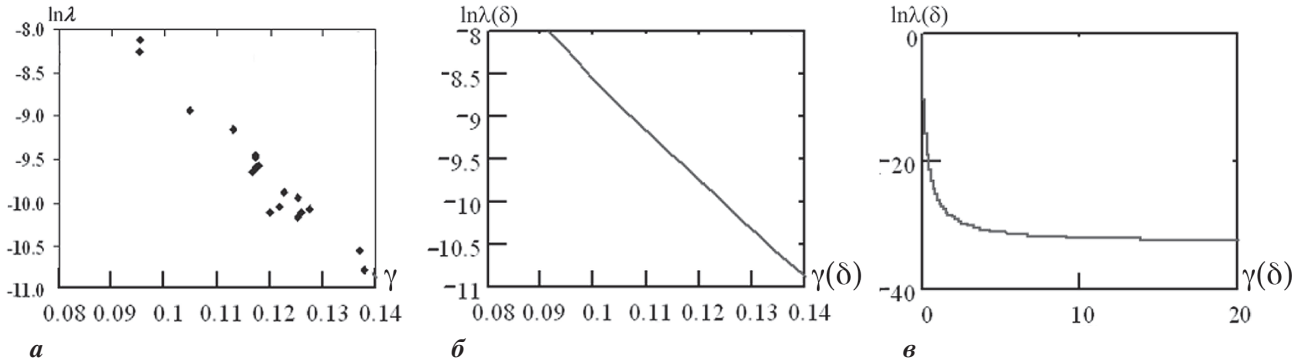


Рис. 5. Связь между $\ln\lambda$ и γ : а — точки определены по данным для женского населения 18 стран с минимальными C в период 2000–2004 гг.; б — аппроксимация результатов с панели а моделью по уравнениям (10) при $R_0=35,875$, $\beta/\alpha=3,297$, $q=1,05$ и варьируемом параметре δ в диапазоне, свойственном человеческим популяциям; в — связь между $\ln\lambda$ и γ в широком диапазоне варьирования δ

функцию вида $y=a+b \times \exp(-x/c)$, соответствующую КГМ. Данные по смертности были получены из базы данных Human Mortality Database (<http://www.mortality.org>). Наиболее адекватным возрастным интервалом для анализа в соответствии с КГМ оказался период 25–80 лет. Результаты определения параметров КГМ по этому интервалу для женщин в странах с минимальным C показаны на рис. 5, а. Корреляция точек, представляющих разные страны, с уравнением линейной регрессии соответствует $R^2=0,9576$. Для мужчин результаты аналогичны, но менее растянуты и поэтому менее наглядны ($R^2=0,9006$). Во всяком случае, видно, что компенсационный эффект смертности остается серьезным вызовом для любой общей теории старения, даже если его количественные проявления пренебрежимо малы в практическом демографическом смысле.

Если считать, что закон Гомпертца–Мэйкхемма происходит из аррениусовской кинетики не только концептуально, но и реально, в силу происхождения жизни из химического мира [8], то связь между γ и λ существовать должна, причем, на первый взгляд, именно такая, которая подсказала Стрелеру и Милдвану существование линейной корреляции между $\ln\lambda$ и γ [70].

В самом деле, объединяя уравнения (1) и (6), получаем:

$$\mu = C + Ae^{-\frac{(E_0 - \frac{\alpha}{\beta}t)/q}{\beta}}, \quad (7)$$

так что $\lambda = Ae^{-\frac{E_0}{q}}$ и $\gamma = \frac{\alpha}{\beta} \times \frac{1}{q}$,

что соответствует линейной связи между $-\ln\lambda$ и γ через q .

При рассмотрении этой связи может показаться вполне естественным, что q увеличивает исходную смертность (λ). Однако совершенно не кажется естественным, что q замедляет старение (снижает γ). Эту ситуацию, которую сами Стрелер и Милдван расценивали как «противоречащую интуитивным понятиям», можно поправить интуитивно приемлемым предположением, что распределение ресурсов между защитой от причин смерти и защитой от внутренних причин, приводящих к снижению эффективности защиты от причин смерти, зависит от q .

Допустим, что распределение ресурсов организма (R) между обеспечением способности (E) противостоять причинам смерти и обеспечением защиты (P) от параметаболических повреждений, снижающих E , можно формализовать как $E/P=k$ при $E+P=R$, так что $E=k \times R/(k+1)$ и $P=R/(k+1)$. Допустим, что коэффициент распределения k пропорционален жесткости среды (q), то есть $k=\delta \times q$, где δ отражает способность организмов перераспределять ресурсы к защите от факторов смертности при их усилении. Поскольку любое использование ресурсов сопровождается параметаболическими эффектами, интенсивность производимого ими повреждения будет $\alpha \times R(t)$, и оно будет накапливаться со скоростью, определяемой уравнением (6):

$$-\frac{dR}{dt} = \frac{\alpha \cdot R(t)}{\beta \cdot P} = \frac{\alpha \cdot (1+k)}{\beta},$$

что приводит к

$$R(t) = R_0 - \frac{\alpha \cdot (1+k)}{\beta} \cdot t. \quad (8)$$

Подстановка E на место R дает

$$\frac{E(t) \cdot (k+1)}{k} = R_0 - \frac{\alpha(1+k)}{\beta} \cdot t, \text{ так что}$$

$$E(t) = \frac{R_0 k}{k+1} - \frac{\alpha k}{\beta} \cdot t,$$

и тогда гомпертцовский член КГМ будет определяться как

$$\mu - C = e^{-\frac{R_0 k}{k+1} - \frac{\alpha \cdot k}{\beta} \cdot t} = e^{-\frac{R_0 \delta \cdot q}{k+1} - \frac{\alpha \cdot \delta \cdot q}{\beta} \cdot t} = e^{-\frac{R_0 \cdot \delta}{\delta \cdot q + 1}} \times e^{-\frac{\alpha \cdot \delta}{\beta} \cdot t}. \quad (9)$$

Соответственно,

$$\ln \lambda = -\frac{R_0 \cdot \delta}{\delta \cdot q + 1} \quad \text{и} \quad \gamma = \frac{\alpha \cdot \delta}{\beta}. \quad (10)$$

Таким образом, $\ln \lambda$ и γ оказываются связанными через δ , но в этом случае связь не линейна. Выражая δ через γ и подставляя в $\ln \lambda$, получаем:

$$\ln \lambda = -\frac{R_0 \frac{\gamma \beta}{\alpha}}{q \frac{\gamma \beta}{\alpha} + 1}, \quad (11)$$

чему соответствует уравнение вида $y = a \times b \times x / (a \times x + 1)$. Оценка аппроксимации реальных данных этим уравнением дает $R^2 = 0,961$ (против $R^2 = 0,958$ для линейной регрессии). Хотя различия по R^2 невелики, ранжирование 46 встроенных в TableCurve функций, выбранных по признаку не более чем трех параметров, вместе с вышеуказанным эквивалентом уравнения (11) по соответствию координатам точек на рис. 5 определяет для линейной регрессии ранг 19, а для функции (11) более высокий ранг 10. Численные оценки параметров этой функции дают $q = 1,05$, $R_0 = 34,875$, $\beta/\alpha = 3,297$. На большом диапазоне видно, что при таких параметрах (как и любых других) зависимость между $\ln \lambda$ и γ отнюдь не линейна (см. рис. 5, в), но в том диапазоне, который имеет место у людей (см. рис. 5, б), она настолько похожа на ту, которую можно получить из данных по смертности в разных странах (см. рис. 5, а) и принято считать линейной, что эта схожесть видна даже без привлечения специальных методов анализа.

Из объяснения корреляции между $\ln \lambda$ и γ , предложенного Стрелером и Милдваном [70], а также из любых объяснений, подразумевающих ускорение потерь избыточности по мере ее увеличения, например из предложенного Л. и Н. Гавриловыми на основании «надежностной» метафоры [33], следует, что зависимости смертности от возраста для данного биологического вида должны сходиться к одной точке, инвариантной для этого вида. Такой жесткий паттерн не может не

наводить на мысль о том, что в нем скрыт глубокий смысл [1, 4, 65]. Из нового объяснения связи между λ и γ также следует прогрессирующее схождение графиков смертности по мере увеличении возраста, но паттерн этого схождения не столь категоричен. Его можно описать так: каждая траектория обязательно пересекает все траектории с более высокими λ (и, значит, низкими δ и γ) в точках с соответственно возрастающими значениями координат. При реальных значениях параметров такие точки находятся в относительно узком диапазоне t , но инварианта все же пропадает. Рис. 6 показывает, как выглядели бы зависимости $\ln \mu$ от t , если бы точки на рис. 5, а точно вписывались в линию на рис. 5, б.

Таким образом, в наблюдаемой отрицательной корреляции между λ и γ можно выделить два однонаправленных компонента. Один представляет собой артефакт математического анализа смертности. Роль этого артефакта возрастает при увеличении C и различий по C между исследуемыми популяциями. При этом значительные изменения условий существования в сроки, сравнимые с длительностью существования исследуемых когорт, а также не абсолютная линейность возрастного снижения жизнеспособности приводят к тому, что полностью разложить смертность на $C(t)$ и гомпертцовский компонент практически невозможно, поскольку для этого требуется точное соблюдение КГМ, которое становится все менее точным по мере отклонения условий от постоянства. В такой ситуации практически невозможно избавиться также и от вышеуказанного эффекта. Именно он, судя по всему, внес основной вклад в корреляцию, продемонстрированную Стрелером и Милдваном [70], и значительный вклад в результаты продольного

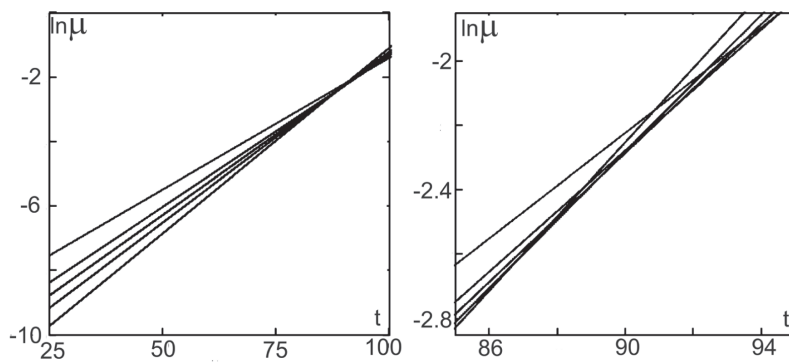


Рис. 6. Идеальные паттерны схождения зависимостей $\ln \mu$ от возраста (t) при $C \approx 0$ по модели, соответствующей уравнениям (10) и (11), в возрастных диапазонах 25–100 лет (слева) и 85–95 лет (справа) в диапазоне значений δ , представленном на рис. 5, б

(longitudinal) гомпертцовского анализа [65, 78]. Второй эффект — это реальная обратная корреляция между жизнеспособностью и скоростью ее снижения по уравнениям (9) и (10). Действительно, можно полагать, что изменения δ возможны не только в пространстве (при сравнении разных популяций), но и во времени (при сравнении разных исторических периодов существования одной популяции). Например, улучшение условий развития может приводить к увеличению силы организмов в пределах нормы реакции, чему соответствует беспрецедентное увеличение роста и физического развития людей на протяжении XX в. [38], когда происходило также и беспрецедентное увеличение средней и максимальной продолжительности жизни [76]. При этом, озадачивает одновременное увеличение скорости старения, выявляемое даже при столь низких и относительно постоянных C [10], что это делает вышеуказанный артефакт пренебрежимо малым. Дело здесь может быть в том, что распределение дополнительно приобретаемых при развитии ресурсов на повышение способности противостоять причинам смерти соответствует увеличению δ , а это, по уравнениям (9) и (10), должно приводить не только к снижению λ , но и к одновременному увеличению γ .

Итак, описываемая модель объясняет компенсационный эффект смертности. Как она соотносится с другими аспектами старения, описываемыми частными теориями?

6. Антагонистическая плейотропия и одноразовая сома

Наибольшее признание из числа теорий эволюционного происхождения старения получила концепция антагонистической плейотропии [74]. За этим признанием обычно подразумевается, что неблагоприятные плейотропные эффекты некоторых полезных генов начинают действовать в поздние периоды жизни. Ниже приведены лишь некоторые примеры, демонстрирующие нынешнюю распространенность такой интерпретации.

«Медавар (P. Medawar) предположил, что вредные мутации, экспрессирующиеся в *поздние возрастные периоды*, должны накапливаться в популяциях и снижать выживание и способность к репродукции у старых индивидов. Уильямс (G. C. Williams) развил эту идею во второй теории, предположив существование антагонистических плейотропных генов, у которых есть *вредные эффекты в позднем возрасте*» [57].

«...Было выдвинуто предположение, что мутантные гены, полезные для развития и репродукции, являются вредными *после репродуктивного возраста*, что может объяснить, почему все виды имеют ограниченную продолжительность жизни» [39].

«Теория антагонистической плейотропии гласит, что старение возникло в эволюции, потому что, по меньшей мере, некоторые аллели с ранним полезным действием, предпочтенные естественным отбором, должны иметь *вредные плейотропные эффекты в поздние периоды жизни*» [62].

Даже если антагонистические эффекты генов эксплицитно ассоциируются с постепенно накапливающимися повреждениями (например, [80]), эта связь сама по себе не делает понятным, почему такие эффекты не проявляются в начале взрослой жизни (как это усматривается в пологости начального снижения кривых дожития, которое связывается с действием случайных причин смерти) и активируются позже (крутое снижение поздних участков кривых дожития, которое приписывается действию старения). Кроме того, отмечено [59], что «существующие теории имплицитно признают, что старение и продолжительность жизни эволюционируют независимо. Так, например, теория антагонистической плейотропии предсказывает, как возникает старение, но делает это на основании произвольно фиксированной продолжительности жизни».

Если считать, что дожитие живых организмов определяется динамикой смертности, которая коренится в аррениусовской кинетике и, таким образом, является имманентно экспоненциальной, вышеуказанные несоответствия объясняются тем, что постепенное накопление последствий вредных плейотропных эффектов, действующих с самого начала жизни, приводит к переходу от пологого раннего к крутому позднему снижению дожития, причем на позднее снижение приходится основная часть смертей, и оно, таким образом, является главным детерминантом ограниченного срока существования когорты, имеющих конечную численность.

Теория накопления вредных мутаций с отсроченным действием [55] стоит в стороне от предлагаемой концепции. Однако следует отметить, что здесь, во-первых, надо различать накопление соматических мутаций в организме, которое может являться одним из факторов старения этого организма, и эволюционное накопление мутаций в клетках зародышевого ряда. Практика обсуждения этого вопроса показывает, что такое различие при-

нимается во внимание не всегда. Во-вторых, теория П. Медавара, относящаяся ко второму из указанных типов мутаций, не объясняет, как они могут иметь только поздние проявления. Эта трудность вполне признана: «...вполне может быть, что аллели, ответственные за такое накопление мутаций, редки. Эти аллели имеют плохие эффекты только в позднем возрасте; в более молодом возрасте они нейтральны и не имеют эффектов. Такие аллели могут быть редкими, потому что на практике мутациям трудно быть такими, чтобы вызывать эффекты, которые начинают действовать только в позднем возрасте» [72]. Однако еще труднее на практике чисто вредным мутациям не только быть таковыми, но и не быть отсеянными естественным отбором, когда их вредные эффекты распределены по всем возрастным интервалам.

Теория «расходной», или «одноразовой» (disposable), сомы (ТРС) имеет много пересечений с параметаболической теорией (ПМТ), поэтому различия между ними следует отметить особо. ТРС выводит менее чем 100 % эффективность защиты от эндогенных повреждений и репарации их последствий из невозможности направлять на это все доступные ресурсы ввиду необходимости отводить часть ресурсов на размножение [30, 46]. ПМТ подразумевает, что никакие молекулярные процессы не могут быть эффективными на 100 %, особенно в масштабах клетки, а также выводит невозможность полного самообслуживания логически из теоремы Геделя о неполноте, которая может быть справедливой на множестве метаболических взаимодействий. Из этих предпосылок следует, что проблема распределения ресурсов не играла решающей роли в возникновении старения, поэтому ТРС может иметь отношение к эволюции продолжительности жизни в условиях уже существующего старения, но не к его возникновению и, тем более, не к специфическому (экспоненциальному) паттерну смертности, наблюдаемому при старении. Фактически, закон Гомпертца—Мэйкхем принимается как данность в математическом моделировании эволюции продолжительности жизни в соответствии с ТРС [30].

В ТРС постепенное накопление эндогенных повреждений не рассматривается в обязательной связи с антагонистической плейотропией, например, эти два явления разделены во влиятельной обзорной статье Т. Кирквуда (автор ТРС) и С. Остада [46]: «...2) Старение не запрограммировано, а является, главным образом, результатом накопления соматических повреждений из-за огра-

ниченного вложения ресурсов в самоподдержание и самовосстановление. Таким образом, продолжительность жизни определяется генами, контролирующими такие активности, как репарация ДНК и антиоксидантная защита. 3) *Вдобавок*, в позднем возрасте возможны вредные эффекты генов, возникающие либо из-за чисто разрушительных генов, которые избежали элиминации естественным отбором, либо из-за некоторых плейотропных генов с оптимизированным балансом действия между полезными эффектами в раннем и вредными в позднем возрасте».

С позиций ПМТ, полностью совладать с параметаболическими повреждениями можно ростом и/или делением клеток и/или их удержанием на низком стационарном уровне полным самообновлением, причем оба эти способа несовместимы с рядом высших физиологических функций. Тот факт, что у кишечнополостного животного обыкновенной речной гидры не найдено никаких проявлений старения [54], можно объяснить способностью таких организмов к полному самообновлению (что лишает их возможности иметь некоторые полезные приспособления, такие как скелет или мозг). В противном случае, необновляемые компоненты накапливали бы параметаболические продукты и становились бы все менее пригодными к оптимальному функционированию. Этот аспект старения подчеркивается в теориях накопления шлаков или отходов [22, 40].

Вышесказанное можно проиллюстрировать следующим. Способность метаболизировать ароматические аминокислоты в катехоламины, используемые в сигнальных механизмах, вероятно, появилась в эволюции еще у простейших [11] и низших беспозвоночных, включая постоянно растущие организмы [48]. Высокая склонность катехоламинов к образованию цитотоксических продуктов параметаболического окисления [2, 3], вероятно, не была для этих организмов особой проблемой, поскольку такие продукты можно было удерживать на низких стационарных уровнях постоянным ростом и/или самообновлением. Когда их унаследовали высшие многоклеточные организмы, двуличие катехоламинов проявило себя в полной мере в постмитотических структурах, где они используются в качестве нейромедиаторов. К числу этих структур относятся гипоталамические центры, участвующие в регуляции нейроэндокринных функций, что придает старению млекопитающих важную специфику (см. выше).

Таким образом, в параметаболической перспективе проблема эволюционного происхождения старения выглядит очень конкретно: как могли признаки, связанные с отсутствием полного самообновления некоторых структур организма (например, в головном мозге), сохраниться при естественном отборе, несмотря на то, что это отсутствие актуализирует предсуществующий потенциал кумулятивного повреждения из-за параметаболических взаимодействий между молекулами, необходимыми для функционирования этих структур?

Предлагаемый взгляд на вещи означает, что старение является результатом химического наследия биологии, а именно параметаболических реакций, которые ответственны за вредные кумулятивные плейотропные эффекты генов внутри организмов, и (генерализованного) закона Гомпертца—Мэйкхема, который, будучи производным химической кинетики, действует на уровне множеств организмов, сдвигая к поздним возрастам проявления этих плейотропных эффектов в виде их влияния на смертность. Моделирование на таких основаниях показывает, что эволюционное приобретение новых функций, сопряженное с ускоренным снижением функциональных способностей из-за накопления параметаболических повреждений, вызываемых этими функциями, может повышать эффективность вложения ресурсов в потомство, несмотря на снижение продолжительности существования когорт и даже сокращение репродуктивного периода организмов, и, таким образом, может находиться под положительным давлением естественного отбора.

Этот взгляд дополняет эволюционные теории, которые, фактически, доказывают только то, что давление отбора становится с возрастом слабее по мере снижения вероятности дожить до данного возраста и/или принять участие в репродукции популяции в этом возрасте [25, 37, 66]. Однако это ослабление вовсе не то же самое, что повышение смертности, и переход от первого ко второму, хотя и мыслим, далеко не тривиален. Попытки вывести паттерны смертности из эволюционных соображений, исходящих из оптимизации физиологических и экологических балансов [12, 26] и законов популяционной генетики [16], приводят к выводу о возможности самых разнообразных паттернов, даже соответствующих отсутствию старения [16], так что экспоненциально возрастающая смертность оказывается лишь одним из возможных частных

вариантов. То есть, такой вариант увеличения смертности с возрастом и, более того, любое увеличение смертности с возрастом можно совместить с эволюционными соображениями (фактически, именно кажущаяся несовместимость мотивировала интерес эволюционистов к этому вопросу), но нельзя вывести из них.

Также признается, что «эволюционная теория была менее успешна в предсказании конкретных классов генов, которые следует ассоциировать с процессом старения» [62] и что, «несмотря на большую эмпирическую работу, свидетельства существования генов с необходимыми зависимыми от возраста эффектами остаются скудными» [69].

Исследования природы вредных плейотропных эффектов были и остаются сфокусированными на последствиях их проявления после какого-либо возраста (например, первая или последняя репродукция), а не на постепенном усилении их проявления на протяжении всей жизни. В такой перспективе вопросом оказывается не то, как возникло старение, а как возникло ограничение срока жизни или способности к размножению, и старение тогда предстает, в лучшем случае, как результат все возрастающего числа разных эффектов, а не накопления последствий эффектов, присутствующих с самого начала и на протяжении всей жизни.

Поиски генов с вредными эффектами направлены на случаи, когда мутации, ослабляющие прямые функции гена, оказываются связанными с увеличенным сроком жизни. Неудивительно, что отыскать такие мутации непросто [49]. Другим направлением поисков являются гены, связанные с повышенным риском заболеваний, которым свойственно развиваться в пожилом возрасте, таких как хорея Хантингтона [13]. Еще одно направление — это взаимодействия между белками, приводящие к помехам действию одних белков со стороны других [39, 63], в частности участвующих в передаче регуляторных сигналов [50]. Еще один подход состоит в выведении антагонистической плейотропии из конкуренции генов-кандидатов за какие-либо ограниченные ресурсы [18, 30]. Во всех этих случаях остается неясным, почему антагонистическая плейотропия должна проявляться именно в позднем возрасте. *Рис. 7* иллюстрирует соотношение между вышеописанными вариантами антагонизма и параметаболическим антагонизмом.

Действие генов состоит в управлении синтезом белков, катализирующих образование метаболи-

тов, что обозначено тонкими стрелками (см. рис. 7), пересекающимися графические символы этих белков. Продукты параметаболических взаимодействий между метаболитами, образующимися в результате действия белковых продуктов генов, могут накапливаться в необновляемых структурах, включая гены, а также средства реализации участия метаболитов в биологических функциях, например в стрессоустойчивости или репродукции, что приводит к старению. Конкуренция за ресурсы и помехи действию одних белков со стороны других создают текущие антагонистические отношения. При этом, взаимодействия между белковыми продуктами могут быть еще и основой для эволюционного возникновения специальных механизмов переключения ресурсов между стрессоустойчивостью и репродукцией.

В то же время, существует множество свидетельств, причем вне связи с какой-либо эволюционной теорией, которые указывают на то, что «повреждения», например вызываемые свободными радикалами, начинаются с самого начала чьего-либо существования и, таким образом, являются не поздними, а кумулятивными. Выше (раздел 1) эти кумулятивные повреждения были эксплицитно ассоциированы с последствиями параметаболических реакций между биомолекулами, которые образуются в организме при участии белков, кодируемых соответствующими генами, и, таким образом, в явном виде интерпретированы как вредные плейотропные эффекты этих генов. Один из выводов этой интерпретации состоит в том, что гены с антагонистической плейотропией отнюдь не редки, а напротив, весьма обычны. Второй вывод состоит в том, что вредные параметаболические эффекты свойственны генам, которые совершенно необходимы для жизнеспособности организмов, и тогда мутации, ослабляющие функции таких генов, чаще всего должны быть летальными, а не увеличивающими продолжительность жизни. Еще один вывод состоит в том, что старение является не следствием какого-то неудачного поворота в эволюции, а неизбежным результатом избыточных химических потенций молекул, задействованных в биологических функциях жизненно важных компонентов, которые должны быть не обновляемыми для того, чтобы функционировать оптимальным образом.

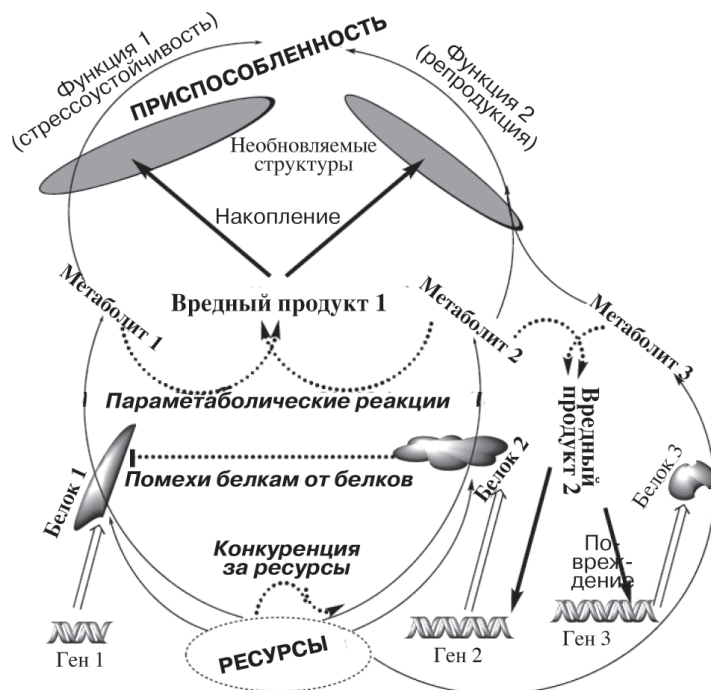


Рис. 7. Варианты антагонистических отношений между генами

Таким образом, параметаболическая теория старения создает концептуальную основу для очень важных, но, в сущности, дескриптивных теорий старения, которые сфокусированы на источниках эндогенных повреждений (например, свободно-радикальная теория [9, 31]) или на накопителях этих повреждений (соматические мутации в ДНК, сшивки в белках внеклеточного матрикса и т.д.). Каждая такая теория относится к частному механизму, а не к общей причине старения. Движущая сила старения возникла бы, даже если бы не было никаких контактов живых организмов с кислородом и даже если бы вообще не было такого явления, как свободные радикалы.

Сила свободнорадикальной, поперечношиповочной и других родственных теорий состоит в том, что они предлагают конкретные мишени для воздействий на старение. Однако эксперимент, показывающий, что воздействие на постулированную причину старения действительно влияет на него, доказывает только то, что эта причина доступна для воздействий и может иметь практическое значение, но не то, что эта причина является фундаментальной или первичной. Из параметаболической теории следует, что основная часть того, что лежит в основе антагонистической плейотропии и составляет движущую силу старения, возникла в эволюции очень рано, когда эта

сила могла рассеиваться клеточным делением и, таким образом, не причинять особого вреда и не элиминироваться отбором. Посему эта движущая сила заложена в метаболических взаимодействиях столь глубоко, что ее непросто модифицировать и продемонстрировать путем модификаций. Глубина ее залегания меньше у более примитивных организмов, например нематод. И действительно, известные модификации паттернов выживаемости этих организмов включают такие, где явно происходят изменения скорости старения, отражаемые изменениями γ (уравнение 2) в законе Гомпертца—Мэйкхема [43], и эта глубина больше у более развитых организмов, таких как люди. У мышей практически все известные способы увеличения продолжительности жизни влияют на λ , а не на γ [78] — даже те, что считаются воспроизводящими ограничение питания по калорийности, которое, надо признать, снижает-таки скорость старения и у мышей тоже. (При этом интересно, что способы экспериментального повышения скорости старения мышей гораздо более многочисленны.) Этот взгляд не исключает эволюционного снижения любого или всех параметров закона Гомпертца—Мэйкхема, как оно происходило в процессе эволюционного превращения обезьяны в человека. Однако по отношению к уже сложившемуся виду *Homo sapiens* этот взгляд гораздо менее оптимистичен, чем воззрения, усматривающие возможность обратимости старения [27] или запрограммированности старения человека [52].

Видимая приуроченность вредных параметраболических эффектов в их влиянии на смертность к поздним возрастам, как предложено выше, является результатом имманентно экспоненциальной зависимости изменений смертности от изменений жизнеспособности, которая выражена в обобщенном законе Гомпертца—Мэйкхема (уравнение 2), причем это снижение жизнеспособности вызывается накоплением последствий вредных параметраболических эффектов, а не их активацией в позднем возрасте.

Литература

1. Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С. Биология продолжительности жизни. М: Наука, 1991. С. 1–280.
2. Голубев А. Г. Катехоламины, стероиды и старение в нервной и эндокринной системах // Успехи соврем. биол. 1989. Вып. 6. С. 64–75.
3. Голубев А. Г. Изнанка метаболизма // Биохимия. 1996. Т. 61. С. 2018–2039.
4. Голубев А. Г. Взаимная совместимость представлений о старении и продолжительности жизни, их механизмах и проявлениях на уровне организма и популяции и их эволюции // Успехи геронтол. 1997. Вып. 1. С. 25–34.
5. Голубев А. Г. Амилоидозы, болезнь Альцгеймера и старение // Успехи геронтол. 2000. Вып. 4. С. 102–112.
6. Голубев А. Г. Естественная история теломер // Успехи геронтол. 2001. Вып. 7. С. 95–104.
7. Голубев А. Г. Численное моделирование идеальных когорт стареющих организмов при соблюдении закона Гомпертца—Мэйкхема и корреляции Стрелера—Милдвана // Успехи геронтол. 2004. Вып. 15. С. 36–50.
8. Голубев А. Г. Проблемы обсуждения вопроса о возможности подходов к построению общей теории старения. I. Обобщенный закон Гомпертца—Мэйкхема // Успехи геронтол. 2009. № 1. С. 60–73.
9. Гусев В. А. Свободнорадикальная теория старения в парадигме геронтологии // Успехи геронтол. 2000. Вып. 4. С. 41–49.
10. Мамаев В. Б., Царин А. А., Миненкова Е. А. Историческая динамика возрастной смертности: I. Эволюция продолжительности жизни населения Финляндии // Успехи геронтол. 2004. Вып. 15. С. 23–29 Б.
11. Шпаков А. О., Деркач К. В., Успенская З. И. и др. Молекулярные механизмы регуляторного действия агонистов адренергических рецепторов на функциональную активность аденилициклазной регуляторной системы у реснитчатых организмов *Dileptus anser* и *Tetrahymena pyriformis* // Цитология. 2004. Т. 46. С. 317–325.
12. Abrams P. A., Ludwig D. Optimality theory, Gompertz' law, and the disposable soma theory of senescence // Evolution. 1995. Vol. 49. P. 1055–1066.
13. Albin R. L. Antagonistic pleiotropy, mutation accumulation, and human genetic disease // Genetica. 1993. Vol. 91. P. 279–286.
14. Barbi E., Cazelli G., Vallin J. Trajectories of extreme survival in heterogeneous populations // Population (English Edition). 2003. Vol. 58. P. 43–65.
15. Bartosz G. Non-specific reactions: molecular basis for aging // J. theor. biol. 1981. Vol. 91. P. 233–235.
16. Baudisch A. Hamilton's indicators of the force of selection // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 8263–8268.
17. Binder P.-M. Theories of almost everything // Nature. 2008. Vol. 455. P. 884–885.
18. Bochdanovits Z., De Jong G. Antagonistic pleiotropy for life-history traits at the gene expression level // Proc. roy. Soc. Lond. B (Suppl.). 2004. Vol. 271. P. S75–S78.
19. Bribiescas R. G. On the evolution, life history, and proximate mechanisms of human male reproductive senescence // Evolution. Anthropol. 2006. Vol. 15. P. 132–141.
20. Brody S. The kinetics of senescence // J. gen. Physiol. 1924. Vol. 6. P. 245–257.
21. Broussard D. R., Michener G. R., Risch T. S., Dobson F. S. Somatic senescence: evidence from female Richardson's ground squirrels // OIKOS. 2005. Vol. 108. P. 591–601.
22. Brunk U. T., Terman A. The mitochondrial-lysosomal axis theory of aging: accumulation of damaged mitochondria as a result of imperfect autophagocytosis // Europ. J. Biochem. 2002. Vol. 269. P. 1996–2002.
23. Bunn H. F., Higgins P. J. Reaction of monosaccharides with proteins: possible evolutionary significance // Science. 1981. Vol. 213. P. 222–224.
24. Carnes B. A., Holden L. R., Olshansky S. J. et al. Mortality partitions and their relevance to research on senescence // Biogerontology. 2006. Vol. 7. P. 183–198.
25. Charlesworth B. Fisher, Medawar, Hamilton and the evolution of aging // Genetics. 2000. Vol. 156. P. 927–931.

26. Cichon M., Kozowski J. Aging and typical survivorship curves result from optimal resource allocation // *Evolution. Ecol. Res.* 2000. Vol. 2. P. 857–870.
27. De Gray A. D. The foreseeability of real antiaging medicine: focusing the debate // *Exp. Geront.* 2003. Vol. 38. P. 927–934.
28. De Magalhaes J. P., Cabral J. A., Magalhaes D. The influence of genes on the aging process of mice: a statistical assessment of the genetics of aging // *Genetics.* 2005. Vol. 169. P. 265–274.
29. Dolejs J. The extension of Gompertz law's validity // *Mech. Aging Dev.* 1997. Vol. 99. P. 233–244.
30. Drenos F., Kirkwood T. B. Modeling the disposable soma theory of aging // *Mech. Aging Dev.* 2005. Vol. 126. P. 99–103.
31. Finkel T., Holbrook N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of aging // *Nature.* 2000. Vol. 408. P. 239–247.
32. Franzen T. The popular impact of Godel's incompleteness theorem // *Not. Amer. Mathem. Soc.* 2006. Vol. 53. P. 440–443.
33. Gavrilov L. A., Gavrilova N. S. The reliability theory of aging and longevity // *J. theor. biol.* 2001. Vol. 213. P. 527–545.
34. Golubev A. Does Makeham make sense? // *Biogerontology.* 2004. Vol. 5. P. 159–167.
35. Golubev A., Khrustalev S., Butov A. An in silico investigation into the causes of telomere length heterogeneity and its implications for the Hayflick limit // *J. theor. biol.* 2003. Vol. 225. P. 153–170 B.
36. Gompertz B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality and on a new model of determining life contingencies // *Philos. Trans. roy. Soc. Lond. A.* 1825. Vol. 115. P. 513–585.
37. Hamilton W. D. The molding of senescence by natural selection // *J. theor. biol.* 1966. Vol. 12. P. 12–45.
38. Harris B. Growing taller, living longer? Anthropometric history and the future of old age // *Aging and Society.* 1997. Vol. 17. P. 491–512.
39. He X., Zhang J. Toward a molecular understanding of pleiotropy // *Genetics.* 2006. Vol. 173. P. 1885–1891.
40. Hirsch H. R. The waste-product theory of aging: cell division rate as a function of waste volume // *Mech. Aging Dev.* 1986. Vol. 36. P. 95–107.
41. Horiuchi S. Interspecies differences in the life span distribution: humans versus invertebrates // *Popul. Dev. Rev.* 2003. Vol. 29, Supplement: Life Span: Evolutionary, Ecological, and Demographic Perspectives. P. 127–151.
42. Hornsby P. J. Cytochrome P-450/pseudosubstrate interactions and the role of antioxidants in the adrenal cortex // *Endocr. Res.* 1986. Vol. 12. P. 469–494.
43. Huang C., Xiong C., Kornfeld K. Measurements of age-related changes of physiological processes that predict life span of *Caenorhabditis elegans* // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101. P. 8084–8089.
44. Jacob F. Evolution and tinkering // *Science.* 1977. Vol. 196. P. 1161–1166.
45. Kirkwood T. B., Holliday R. The evolution of aging and longevity // *Proc. roy. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1979. Vol. 205. P. 531–546.
46. Kirkwood T. B. L., Austad S. N. Why do we age? // *Nature.* 2000. Vol. 408. P. 233–238.
47. Kulminski A., Yashin A., Arbeev K. et al. Cumulative index of health disorders as an indicator of aging-associated processes in the elderly: Results from analyses of the National Long Term Care Survey // *Mech. Aging Dev.* 2007. Vol. 128. P. 250–258.
48. Lacoste A., Malham S. K., Cueff A. et al. Evidence for a form of adrenergic response to stress in the mollusc *Crassostrea gigas* // *J. exp. Biol.* 2001. Vol. 204. P. 1247–1255.
49. Leroi A. M., Bartke A., De Benedictis G. et al. What evidence is there for the existence of individual genes with antagonistic pleiotropic effects? // *Mech. Aging Dev.* 2005. Vol. 126. P. 421–429.
50. Leroi A. M. Molecular signals versus the Loi de Balancement // *Trends Ecol. Evol.* 2001. Vol. 16. P. 24–29.
51. Leslie M. Searching for the secrets of the super old // *Science.* 2008. Vol. 321. P. 1764–1765.
52. Longo V. D., Mitteldorf J., Skulachev V. P. Programmed and altruistic aging // *Nat. Rev. Genet.* 2005. Vol. 6. P. 866–872.
53. Lorenzini A., Tresini M., Austad S. N., Cristofalo V. J. Cellular replicative capacity correlates primarily with species body mass not longevity // *Mech. Aging Dev.* 2005. Vol. 126. P. 1130–1133.
54. Martinez D. E. Mortality patterns suggest lack of senescence in hydra // *Exp. Geront.* 1998. Vol. 33. P. 217–225.
55. Medawar P. B. *An Unsolved Problem of Biology.* London: Lewis, 1952.
56. Milne E. M. G. The natural distribution of survival // *J. theor. biol.* 2008. Vol. 255. P. 223–236.
57. Monaghan P., Charmantier A., Nussey D. H., Ricklefs R. E. The evolutionary ecology of senescence // *Func. Ecol.* 2008. Vol. 22. P. 371–378.
58. Olshansky S. J., Carnes B. A. Ever since Gompertz // *Demography.* 1997. Vol. 34. P. 1–15.
59. Orzack S. H. How and why do aging and life span evolve? // *Popul. Dev. Rev.* 2003. Vol. 29, Supplement: Life Span: Evolutionary, Ecological, and Demographic Perspectives. P. 19–38.
60. Perry R. S., Kolb V. M. On the applicability of Darwinian principles to chemical evolution that led to life // *Int. J. Astrobiol.* 2004. Vol. 3. P. 45–53.
61. Pletcher S. D., Neuhauser C. Biological aging — criteria for modeling and a new mechanistic model // *J. Modern Physics C.* 2000. Vol. 11. P. 525–546.
62. Promislow D. E. L. Protein networks, pleiotropy and the evolution of senescence // *Proc. roy. Soc. Lond. B.* 2004. Vol. 271. P. 1225–1234.
63. Pross A. The driving force for life's emergence: kinetic and thermodynamic considerations // *J. theor. biol.* 2003. Vol. 220. P. 393–406.
64. Quinn P. G., Payne A. H. Steroid product-induced, oxygen-mediated damage of microsomal cytochrome P-450 enzymes in Leydig cell cultures. Relationship to desensitization // *J. biol. Chem.* 1985. Vol. 260. P. 2092–2099.
65. Riggs J. E., Hobbs G. R. Nonrandom sequence of slope intercept estimates in longitudinal gompertzian analysis suggests biological relevance // *Mech. Aging Dev.* 1998. Vol. 100. P. 269–275.
66. Rose M. R., Rauser C. L., Benford G. et al. Hamilton's forces of natural election forty years ago // *Evolution.* 2007. Vol. 61. P. 1265–1276.
67. Schreiber G., Richardson S. J. The evolution of gene expression, structure and function of transthyretin // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 1997. Vol. 116. P. 137–160.
68. Seluanov A., Chen Z., Hine C. et al. Telomerase activity coevolves with body mass, not lifespan // *Aging Cell.* 2007. Vol. 6. P. 45–52.
69. Seymour R. M., Doncaster C. P. Density dependence triggers runaway selection of reduced senescence // *PLoS Comput. Biol.* 2007. Vol. 3: e256. doi:10.1371/journal.pcbi.0030256.
70. Strehler B. L., Mildvan A. S. General theory of mortality and aging // *Science.* 1960. Vol. 132. P. 14–21.
71. Suematsu K., Kohno M. Age invariant of Gompertz function and exponential decay of populations commensuration with CLOV experiments // *J. theor. biol.* 1999. Vol. 201. P. 231–238.
72. Vaupel J. W. Trajectories of Mortality at Advanced Ages // *Between Zeus and the Salmon. The Biodemography of Longevity*

Eds.: K. W. Wachter and C. E. Finch. Washington, D.C.: National Academy Press, 1997. P. 17–37.

73. *Willekens F.* Gompertz in Context: the Gompertz and related distributions // In: *Forecasting Mortality in Developed Countries* / E. Tabeau et al. (eds.) Kluwer Academic Publishers, 2001. P. 105–126.

74. *Williams G. C.* Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence // *Evolution*. 1957. Vol. 11. P. 398–411.

75. *Williams P. D., Day T.* Antagonistic pleiotropy, mortality source interactions, and the evolutionary theory of senescence // *Evolution*. 2003. Vol. 57. P. 1478–1488.

76. *Wilmoth J. R., Deegan L. J., Lundstrom H., Horiuchi S.* Increase of maximum life-span in Sweden, 1861–1999 // *Science*. 2000. Vol. 289. P. 2366–2368.

77. *Wu J. M., Zelinski M. B., Ingram D. K., Ottinger M. A.* Ovarian aging and menopause: current theories, hypotheses, and research models // *Exp. Biol. Med.* 2005. Vol. 230. P. 818–828.

78. *Yashin A. I., Begun A. S., Boiko S. I.* et al. The new trends in survival improvement require a revision of traditional gerontological concepts // *Exp. Geront.* 2001. Vol. 37. P. 157–167.

79. *Yen K., Steinsaltz D., Mobbs C. V.* Validated analysis of mortality rates demonstrates distinct genetic mechanisms that influence lifespan // *Exp. Geront.* 2008. Vol. 43. P. 1044–1051.

80. *Zwaan B. J.* The evolutionary genetics of aging and longevity // *Heredity*. 1999. Vol. 82. P. 589–597.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 205–222

A. G. Golubev

THE ISSUE OF FEASIBILITY OF A GENERAL THEORY OF AGING II. THE PARAMETABOLIC THEORY OF AGING

Institute of Experimental Medicine, 12 ul. Akad. Pavlova, St.Petersburg 197376, Russia;
e-mail: lxglbv@rambler.ru

Life on Earth has evolved from the chemical world, so nothing of chemistry has disappeared in biology even though of might become unapparent being obscured or counteracted by some other chemistry according to the biological design. Living bodies incorporate molecules involved in biological functions with all their potencies, not only those implicated in the respective functions. The useful properties are exploited by enzymatic catalysis. The excessive properties have manifestations that accompany the enzymatic processes and may be not only irrelevant but even overtly adverse. The accumulation of damage caused by these multiple parametabolic processes results in the reduction of vitality generally known as aging. Another chemical legacy is the exponential dependency of mortality rate on age, which emerged because, in the multimolecular prebiotic aggregates, the role of the main variable in the Arrhenius equation for their decomposition shifted from temperature to activation barrier, which was compromised by the parametabolic processes. This resulted in the shift of the effect of the ever-acting parametabolic damage, as it is manifested in changes in mortality, to later ages. Numerical modelling shows that, in this case, the evolutionary acquisition of new functions that increase resistance to the causes of death may be associated with increased rate of functional decline and reduced cohort lifespan yet increased investment of resources into progeny and thus increased overall fitness, favoured by natural selection.

Key words: *aging, mortality, longevity, evolution, metabolism*

А. Г. Трубицын

МЕХАНИЗМ ФЕНОПТОЗА: I. ВОЗРАСТНОЕ СНИЖЕНИЕ ОБЩЕГО УРОВНЯ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ВЫЗЫВАЕТСЯ ЗАПРОГРАММИРОВАННЫМ ЗАТУХАНИЕМ БИОЭНЕРГЕТИКИ

Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения РАН, 690022 Владивосток, пр. 100-летия Владивостока; 159;
e-mail: trubitsin35@mail.ru

Возрастная деградация всех жизненных процессов организма может быть результатом либо воздействия разрушительных факторов (стохастический механизм старения), либо реализации генетической программы (феноптоз). Доминирующая сейчас стохастическая свободнорадикальная теория старения противоречит множеству эмпирических данных, а полувекковые попытки создать на ее основе средства, замедляющие старение, не дали практических результатов. Очевидно, что стохастический механизм старения неверен. Альтернативного механизма запрограммированного старения пока нет, но предпосылки для его разработки созданы. Показано, что, вопреки устоявшемуся мнению, гены, контролирурующие процесс старения, существуют, а причину нарастания количества поврежденных макромолекул с возрастом (основа свободнорадикальной теории) можно объяснить запрограммированным затуханием биоэнергетики. Поскольку биоэнергетика — это движущая сила всех жизненных процессов, то снижение ее уровня способно повлечь за собой всеобщую деградацию организма. Однако, чтобы превратить этот постулат в основу теории феноптоза, нужно показать, что, кроме увеличения уровня поврежденных макромолекул, затухание биоэнергетики предопределяет и такие фундаментальные процессы, происходящие при старении, как снижение общего уровня синтеза белков, ограничение клеточной пролиферации (лимит Хейфлика), утрата теломеров и др. Данная статья является первым шагом в этом направлении: показан природный механизм, сопрягающий общий уровень белкового синтеза с уровнем клеточной биоэнергетики. Он встроен в трансляционную машину и основан на зависимости скорости рециркуляции эукариотического инициаторного фактора 2 (*eIF2*) от величины отношения АТФ/АДФ, создаваемого митохондриальной биоэнергетической машиной.

Ключевые слова: программа старения, затухание биоэнергетики, трансляционная машина, рециркуляция *eIF2*, снижение общего уровня синтеза белков

В 1990 г. Z. Medvedev [36] классифицировал более трехсот теорий старения. Источник этого удручающего изобилия в том, что возрастной деградации подвержены все жизненные процессы на всех уровнях [1], а поскольку все они взаимозависимы, то каждому из них можно придать статус первопричины старения. Однако анализ причинно-следственных связей любого из них ведет к одной из двух возможных действительно независимых первопричин: деградация под воздействием агрессивных факторов (стохастический

механизм старения) и реализация генетической программы самоликвидации организма, названной В. П. Скулачевым феноптозом [5, 47, 48]. Сокрушительный аргумент против запрограммированного старения представил Р. В. Medawar еще в 1952 г. [35]: в естественных условиях обитания животные не доживают до старости, и естественный отбор не может дифференцировать их по продолжительности жизни. Следовательно, не может существовать и специфических генов, программирующих скорость старения. В результате, основные усилия геронтологов сосредоточились на стохастическом направлении. Уже в 1956 г. D. Harman создал убедительную, логически безупречную свободнорадикальную теорию старения [20], которая в усовершенствованном виде остается наиболее признанной до настоящего времени. Эта теория утверждает, что специфических генов старения нет [31, 32, 44, 50], а организм деградирует под воздействием всевозможных повреждающих факторов, главным образом активных форм кислорода (АФК), генерируемых дыхательной цепью митохондрий [39, 50]. Разрушительным процессам противостоят репарационные механизмы и механизмы детоксификации АФК (scavenging mechanism), эффективность которых запрограммирована, но недостаточна для полной нейтрализации повреждающих факторов и репарации повреждений. Эта недостаточность объясняется тем, что пищевые ресурсы среды в естественных условиях обитания всегда ограничены и распределяются между затратами на размножение и затратами на поддержание стабильности организма (сомы). Затраты на размножение приоритетны, а поддержание сомы осуществляется по остаточному принципу. В результате, чем обильнее среда данного вида, тем больше ресурсов остается на поддержание сомы и тем дольше видоспецифическая продолжительность жизни, и наоборот [31, 32].

Недавно заявлено со ссылкой на эту теорию, что природа старения и долголетия больше не яв-

ляется нерешенной проблемой биологии [23, 25], хотя существует множество доводов, опровергающих это утверждение. Во-первых, сама теория логически непоследовательна. Соглашаясь с Р. В. Medawar в том, что генов старения и долголетия нет, теория, тем не менее, признает, что продолжительность жизни запрограммирована через эффективность репарационных и антиоксидантных систем. Это замаскированная попытка согласовать два взаимоисключающих факта: неоспоримая запрограммированность видоспецифического долголетия и неспособность естественного отбора дискриминировать отдельные особи по продолжительности жизни. Во-вторых, данные наблюдений экологов [4] и результаты широко известных опытов по ограничению пищевых ресурсов (*calorie restriction*) [49] показывают, что ограниченность ресурсов приводит к увеличению продолжительности жизни и снижению темпов размножения, а не наоборот, как это постулирует теория.

В-третьих, теория не выдерживает экспериментальной проверки: множество отрицательных результатов получено исследователями, изучавшими предлагаемый молекулярный механизм возрастного повышения уровня свободных радикалов [12, 19, 22, 28, 33, 34, 42]. Что касается прикладного аспекта этой теории, то R. M. Howes [26], подводя итоги многолетних практических работ, заявил, что свободнорадикальная теория завела геронтологию в тупик: полвека интенсивных экспериментов с антиоксидантами не дали никаких результатов ни в продлении максимальной продолжительности жизни, ни в подавлении старческих пандемий рака, диабета или сердечно-сосудистых заболеваний. Ему вторят G. Vjelakovic и соавт. [13], которые на огромном фактическом материале показали, что антиоксиданты не дают положительного эффекта и, в лучшем случае, не увеличивают продолжительность жизни. К настоящему времени накопилось столько эмпирического материала в пользу запрограммированного старения, что только отсутствие убедительного механизма феноптоза поддерживает свободнорадикальную теорию на плаву.

Предпосылки для создания основ такой теории уже есть. Во-первых, аргумент Р. В. Medawar о невозможности существования генов старения опровергнут. Теория эволюции, послужившая отправной точкой его создания, не стояла на месте и с 1952 г. значительно продвинулась в понимании законов развития живой природы. Выяснилось, в частности, что естественный отбор состоит из индивидуального (дарвиновского) и межпопуляционного (группового), то есть единицей естественного отбора являются не только особи, но и популяции [3, 6, 9, 10]. Рассмотрение эволюционных аспек-

тов долголетия с этих позиций показывает, что видоспецифическая продолжительность жизни находится под контролем естественного отбора, но не индивидуального, а межпопуляционного [8]. Следовательно, существуют и специфические гены, программирующие долголетие. Во-вторых, анализ процессов генерации и тушения АФК показывает, что причина возрастного увеличения АФК и поврежденных ими макромолекул может быть не в накоплении нерепарируемых повреждений в митохондриях, как это постулирует свободнорадикальная теория, а в том, что эффективность механизмов детоксификации АФК зависит от напряженности клеточной биоэнергетики [7]. Это дает основание полагать, что генетическая программа самоликвидации организма реализуется через затухание клеточной биоэнергетики. В этом природа нашла самый рациональный механизм феноптоза: жизнь — это множество взаимосвязанных физико-химических процессов, движимых энергией биоэнергетической машины. Запрограммированное снижение уровня биоэнергетики постепенно ослабляет все процессы вплоть до уровня, несовместимого с жизнью. Именно этот непосредственно программируемый процесс должен прямо или косвенно контролировать другие процессы, сопровождающие старение: замедление белкового синтеза [43], ограниченность клеточной пролиферации (лимит Хейфлика) [24], утрата теломеров [11], дегенерация транскриптома [2] и др. Для обоснования этого механизма феноптоза необходимо показать молекулярные механизмы, сопрягающие эти и другие процессы с уровнем биоэнергетики. Цель данной работы состоит в том, чтобы показать такой механизм для общего уровня синтеза белков.

Механизм контроля общего уровня синтеза белков

У эукариот он контролируется на трансляционном уровне [27, 30, 41]. Молекулярный механизм трансляции и его регуляция хорошо изучены и подробно изложены в ряде обзоров [38, 41, 43]. Из трех стадий трансляции (инициация, элонгация и терминация) регуляторным звеном общего уровня белкового синтеза является инициация [18, 38, 41]. В ней участвуют не менее 12 рециркулирующих эукариотических факторов инициации (*eukaryotic initiation factor, eIF*). Сам процесс инициации подразделяют на три этапа (*рисунок*): 1) связывание инициаторной мет-тРНК и нескольких факторов инициации с 40S рибосомальной субъединицей; 2) связывание образовавшегося комплекса с мРНК и 3) присоединение 60S рибосомальной

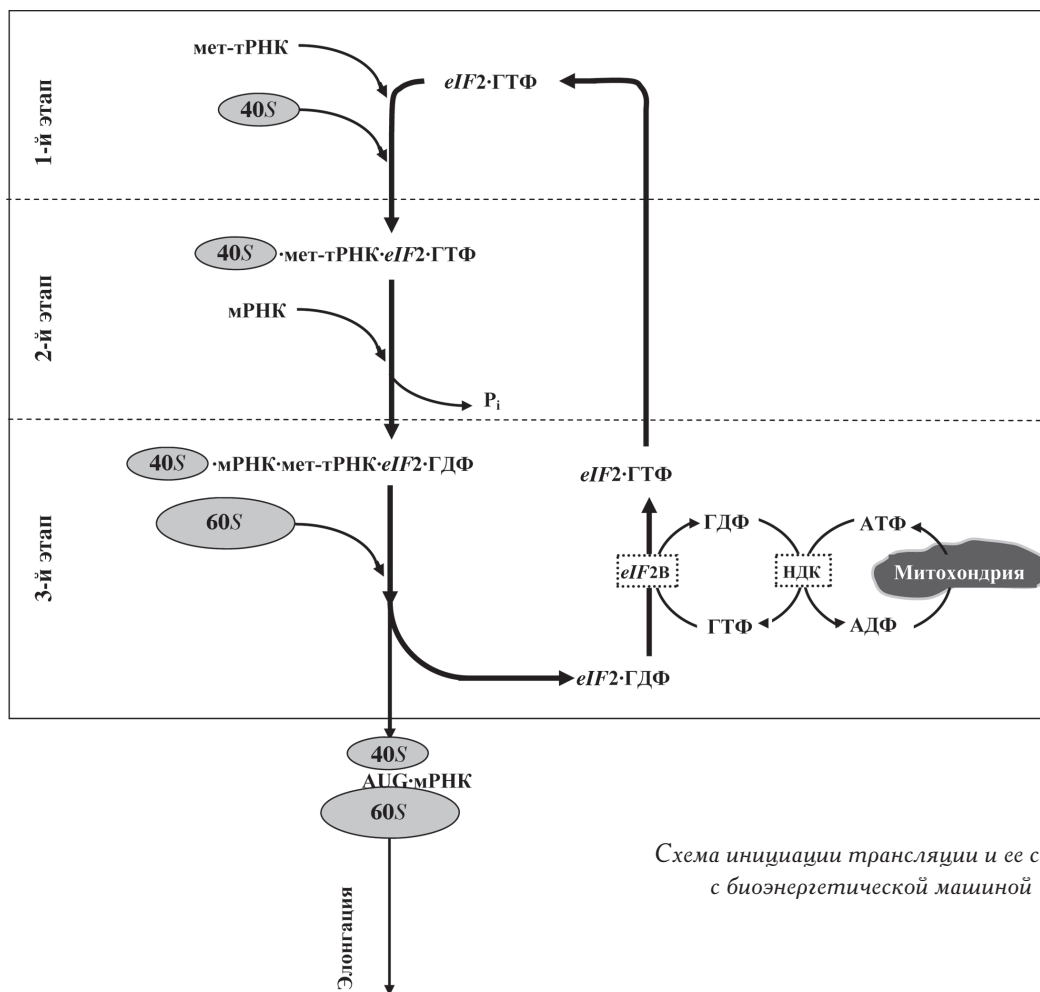


Схема инициации трансляции и ее связи с биоэнергетической машиной

субъединицы и сборка полнофункциональной 80S рибосомы.

Первый этап инициации начинается с присоединения инициаторной мет-тРНК к двойному комплексу *eIF2*·ГТФ. Когда на втором этапе этот преинициаторный комплекс связывается с мРНК, ГТФ в составе тройного комплекса *eIF2*·ГТФ·мет-тРНК гидролизуется до ГДФ. При этом энергия окисления этого нуклеотидтрифосфата расходуется на образование связи, а неорганический фосфор высвобождается. На третьем этапе, завершив свою задачу, преинициаторный комплекс распадается на субъединицы, которые вступают в новый цикл инициации. При этом, однако, *eIF2* остается связанным с ГДФ, причем двойной комплекс *eIF2*·ГДФ стабилен и функционально не активен, то есть не способен связываться с новой мет-тРНК. Для активации *eIF2* необходима замена ГДФ на ГТФ. Эта реакция катализируется фактором обмена гуаниннуклеотидов *eIF2B* [17], а энергетическое обеспечение осуществляется за счет окисления АТФ до АДФ. АДФ подзаряжается затем в биоэнергетической машине. Таким образом, общий уровень синтеза белка регулируется скоростью рециркуляции *eIF2*, которая, в свою очередь, определяется

состоянием клеточной биоэнергетики. Если реакция восстановления ГДФ в комплексе *eIF2*·ГДФ прерывается, то синтез белка в клетке блокируется [14, 15]. На этом основан ряд естественных регуляторных механизмов, защищающих организм во всевозможных стрессовых ситуациях: фосфорилирование α -субъединицы *eIF2* разными специфическими протеинкиназами блокирует реакцию обмена ГДФ на ГТФ, что вызывает полное прекращение синтеза белка в клетке и последующий апоптоз [14, 15, 18]. Эти специфические протеинкиназы экспрессируются в клетке при возникновении таких чрезвычайных ситуаций, как появление двуспиральных репликативных вирусных РНК [29, 40, 45], повреждения генетического аппарата, не поддающиеся репарации [29, 53], катастрофический недостаток аминокислот [14, 21, 41], отсутствие гема в эритроидных клетках [13], злокачественное перерождение клеток [16, 32, 37]. В нормальных же физиологических условиях, когда специализированные протеинкиназы отсутствуют, обмен гуаниннуклеотидов, а с ним и общий уровень белкового синтеза, регулируется уровнем клеточной биоэнергетики [27]. Впервые это обнаружил D. A. Young [51, 52]. Проводя эксперименты с глюкокорти-

коидными гормонами, он заметил, что скорость включения аминокислот в растущую полипептидную цепь зависит от поступления в клетки карбогидратов (глюкозы, пирувата, лактата) — основного топлива биоэнергетической машины. Было сделано предположение, что наблюдаемый эффект связан с уровнем генерации АТФ. Позднее было показано, что регуляция скорости синтеза белков происходит с уровня образования инициаторного комплекса, а скорость процесса определяется величиной отношения ГТФ/ГДФ, которая, в свою очередь, зависит от величины АТФ/АДФ [37, 51]. Между величинами этих отношений в клетке поддерживается динамическое равновесие, катализируемое нуклеотиддифосфаткиназой. В дальнейшем J. H. Nuccall и соавт. [27] детально исследовали количественные параметры влияния АДФ/АТФ и ГДФ/ГТФ на скорость синтеза белков с уровня инициации. Было показано, что только отношения нуклеотиддифосфатов к нуклеотидтрифосфатам, определяющие энергетический потенциал в клетке, а не их абсолютные количества, определяют скорость инициации трансляции и общую скорость белкового синтеза. Из результатов своих исследований авторы делают вывод, что значительное изменение скорости синтеза белков, вызываемое небольшими изменениями отношения АТФ/АДФ и/или ГТФ/ГДФ в области совместимой с нормальным физиологическим энергетическим уровнем, является физиологическим регуляторным механизмом.

В свете развиваемых здесь представлений становится понятным, что важнейшей функцией этого регуляторного механизма является осуществление программы фенотипа: запрограммированное снижение энергетического уровня уменьшает скорость синтеза белков, что, в свою очередь, вызывает лавину дегенеративных изменений [44, 46]. S.I.S. Rattan [43], всесторонне исследовавший влияние возрастного замедления белкового синтеза, пишет, что оно обуславливает недостаточность ферментов для поддержания репарационных механизмов и нормального функционирования клеточного метаболизма, неэффективность удаления из клеток поврежденных и инактивированных макромолекул, неэффективность внутриклеточных и межклеточных сигнальных путей, снижение продукции и секреции гормонов, антител, нейромедиаторов и компонентов внеклеточного матрикса. Одно только это последствие запрограммированного затухания биоэнергетики способно вызвать наблюдаемые возрастные дегенеративные изменения в организме, а есть еще и другие.

Литература

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003.

2. Баранов В. С., Баранова Е. В. Генетические аспекты старения // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. № 2. С. 26–34.
3. Вили К., Детье В. Биология (биологические процессы и законы). М.: Мир, 1974.
4. Гиляров Ф. М. Популяционная экология. М.: Изд-во МГУ, 1990.
5. Скулачев В. П. Старение как атавистическая программа, которую можно попытаться отменить // Вестн. РАН. 2005. № 5. С. 831–843.
6. Тимофеев-Ресовский Н. В., Воронцов Н. Н., Яблоков А. В. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1977.
7. Трубицын А. Г. Модифицированный вариант митохондриальной теории старения // Успехи геронтол. 2006. Вып. 18. С. 21–28.
8. Трубицын А. Г. Механизм эволюции видоспецифической продолжительности жизни // Успехи геронтол. 2006. Вып. 19. С. 13–24.
9. Шварц С. С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980.
10. Яблоков А. В. Популяционная биология. М.: Высш. школа, 1987.
11. Aviv A., Levy D., Mangel M. Growth, telomere dynamics and successful and unsuccessful human aging // Mech. Aging Dev. 2003. Vol. 124. P. 829–837.
12. Barrientos A., Casademont J., Rotig A. et al. Absence of relationship between the level of electron transport chain activities and aging in human skeletal muscle // Biochem. biophys. Res. Commun. 1996. Vol. 229. P. 536–539.
13. Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud L. L. et al. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases // Cochrane database of systematic reviews. 2008. Issue 2. Art. № CD007176.
14. Clemens M. J. Initiation factor eIF2 alpha phosphorylation in stress responses and apoptosis // Prog. Mol. Subcell. Biol. 2001. Vol. 27. P. 57–89.
15. Clemens M. J. Regulation of eukaryotic protein synthesis by protein kinases that phosphorylate initiation factor eIF-2 // Molec. Biol. Rep. 1994. Vol. 19. P. 201–210.
16. Clemens M. J., Bommer U. A. Translational control: the cancer connection // Int. J. Biochem. Cell Biol. 1999. Vol. 31. P. 1–23.
17. Clemens M. J., Pain V. M., Wong S.-T., Henshaw E. C. Phosphorylation inhibits guanine nucleotide exchange on eukaryotic initiation factor 2 // Nature. 1982. Vol. 296. P. 93–95.
18. Clemens M. J., Bushell M., Jeffrey I. W. et al. Translation initiation factor modifications and the regulation of protein synthesis in apoptotic cells // Cell Death Differ. 2000. Vol. 7. P. 603–615.
19. Hamilton M. L., Van Remmen H., Drake J. A. et al. Does oxidative damage to DNA increase with age? // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 10469–10474.
20. Harman D. Aging — a theory based on free radical and radiation chemistry // J. Geront. 1956. Vol. 11. P. 298–300.
21. Harmon C. S., Proud C. G., Pain V. M. Effect of starvation, diabetes and acute insulin treatment on a regulation of polypeptide-chain initiation in rat skeletal muscle // Biochem. J. 1984. Vol. 223. P. 687–696.
22. Hayashi J.-I., Ohta S., Kagawa Y. et al. Nuclear but not mitochondrial genome involvement in human age-related mitochondrial dysfunction. Functional integrity of mitochondrial DNA from aged subjects // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. P. 6878–6883.
23. Hayflick L. Biological aging is no longer an unsolved problem // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2007. Vol. 1100. P. 1–13.
24. Hayflick L., Moorhead P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains // Exp. Cell Res. 1961. Vol. 25. P. 585–621.
25. Holliday R. Aging is no longer an unsolved problem in biology // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006. Vol. 1067. P. 1–9.
26. Howes R. M. The free radical fantasy. A panoply of paradoxes // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006. Vol. 1067. P. 22–26.
27. Hucull J. H., Henshaw E. S., Young D. A. Nucleotide diphosphate regulation of overall rates of protein biosynthesis acting at the level of initiation // J. Biol. Chem. 1985. Vol. 260. P. 15585–15591.
28. Isobe K., Ito S., Hosaka H., Iwamura Y. et al. Nuclear-recessive mutations of factors involved in mitochondrial trans-

lation are responsible for age-related respiration deficiency in human skin fibroblasts // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 4601–4606.

29. Jeffrey I. W., Bushell M., Tilleray V. J. et al. Inhibition of protein synthesis in apoptosis: Differential requirements by the tumor necrosis factor α family and a DNA-damaging agent for caspases and the Double-stranded RNA-dependent Protein Kinase // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 2272–2280.

30. Kimball S. R., Fabian J. R., Pavitt G. D. et al. Regulation of guanine nucleotide exchange through phosphorylation of eukaryotic initiation factor eIF2. Role of the α - and δ -subunits of eIF2B // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 12841–12845.

31. Kirkwood T. B. L. Evolution of aging // *Mech. Aging Dev.* 2002. Vol. 123. P. 737–745.

32. Kirkwood T. B. L. Understanding ageing from an evolutionary perspective // *J. Int. Med.* 2008. Vol. 263. P. 117–127.

33. Lightowers R. N., Jacobs H. T., Kajander O. A. Mitochondrial DNA — all things bad? // *Trends Genet.* 1999. Vol. 15. P. 91–93.

34. Maklashina E., Acrell B. A. C. Is defective electron transport at the hub of aging? // *Aging Cell.* 2004. Vol. 3. P. 21–27.

35. Medawar P. B. An unsolved problem of biology. London: Levis, 1952.

36. Medvedev Z. A. An attempt at a rational classification of theories of aging // *Biol. Rev.* 1990. Vol. 65. P. 375–398.

37. Mendelsohn S. L., Nordeen S. K., Young D. A. Rapid changes in initiation-limited rates of protein synthesis in rat thymic lymphocytes correlate with energy charge // *Biochem. biophys. Res. Commun.* 1977. Vol. 79. P. 53–60.

38. Meric F., Hunt K. K. Translation initiation in cancer: A novel target for therapy // *Mol. Cancer Therap.* 2002. Vol. 1. P. 971–979.

39. Miquel J., Economos A. C., Fleming J., Johnson L. E. Mitochondrial role in cell aging // *Exp. Geront.* 1980. Vol. 15. P. 575–591.

40. Montero H., Rojas M., Arias C. F., López S. Rotavirus Infection Induces the Phosphorylation of eIF2 α but Prevents the Formation of Stress Granules // *J. Virol.* 2008. Vol. 82. P. 1496–1504.

41. Pain V. M. Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells // *Europ. J. Biochem.* 1996. Vol. 236. P. 747–771.

42. Rasmussen U. F., Krustup P., Kjaer M., Rasmussen H. N. Experimental evidence against the mitochondrial theory of aging. A study of isolated human skeletal muscle mitochondria // *Exp. Geront.* 2003. Vol. 38. P. 877–886.

43. Rattan S. I. S. Synthesis, modifications, and turnover of proteins during aging // *Exp. Geront.* 1996. Vol. 31. P. 33–47.

44. Rattan S. I. S. Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals // *Free Rad. Res.* 2006. Vol. 40. P. 1230–1238.

45. Robert F., Kapp L. D., Khan S. N. et al. Initiation of protein synthesis by hepatitis C virus is refractory to reduced eIF2•GTP met-RNAimet ternary complex availability // *Molec. Cell. Biol.* 2006. Vol. 17. P. 4632–4644.

46. Ryazanov A. G., Nefsky B. S. Protein turnover plays a key role in aging // *Mech. Aging Dev.* 2002. Vol. 123. P. 207–213.

47. Skulachev V. P. The programmed death phenomena, aging, and Samuraj law of biology // *Exp. Geront.* 2001. Vol. 36. P. 995–1024.

48. Skulachev V. P. Aging and the programmed death phenomena // In: *Topics in Current Genetics* (Nystrom T. and Osiewicz H. D., eds). 2003. Vol. 3. P. 191–238.

49. Spratt R. L. Diet and calorie restriction // *Exp. Geront.* 1997. Vol. 32. P. 205–214.

50. Trifunovic A., Larsson N.-G. Mitochondrial dysfunction as a cause of aging // *J. Int. Med.* 2008. Vol. 263. P. 167–178.

51. Young D. A. Glucocorticoid action on rat thymus cells. Interrelationships between carbohydrate, protein, and adenine nucleotide metabolism and cortisol effects on these functions in vitro // *J. Biol. Chem.* 1969. Vol. 244. P. 2210–2217.

52. Young D. A. Glucocorticoid action on rat thymus cells. II. Interrelationships between ribonucleic acid and protein metabolism and between cortisol and substrate effects on these metabolic parameters in vitro // *J. Biol. Chem.* 1970. Vol. 245. P. 2747–2752.

53. Zykova T. A., Zhu F., Zhang M. et al. Involvement of ERKs, RSK2 and PKR in UVA-induced signal transduction toward phosphorylation of eIF2 (Ser51) // *Carcinogenesis.* 2007. Vol. 28. P. 1543–1551.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 223–227

A. G. Trubitsin

THE MECHANISM OF PHENOPTOSIS: I. AGE-DEPENDENT DECREASE OF THE OVERALL RATE OF PROTEIN SYNTHESIS IS CAUSED BY THE PROGRAMMED ATTENUATION OF BIO-ENERGETICS

Institute of Biology and Soil Sciences of Far-east Department, RAS, 159 pr. 100-letiya Vladivostoka, Vladivostok 690022, Russia; e-mail: trubitsin35@mail.ru

The age-dependent degradation of all vital processes of an organism can be result of influences of destructive factors (the stochastic mechanism of aging), or effect of realizations of the genetic program (phenoptosis). The stochastic free-radical theory of aging dominating now contradicts the set of empirical data, and the semicentennial attempts to create the means to slow down aging did not give any practical results. It makes obvious that the stochastic mechanism of aging is incorrect. At the same time, the alternative mechanism of the programmed aging is not developed yet but preconditions for it development have already been created. It is shown that the genes controlling process of aging exist (contrary to the customary opinion) and the increase in the level of damaged macromolecules (basic postulate of the free-radical theory) can be explained by programmed attenuation of bio-energetics. As the bio-energetics is a driving force of all vital processes, decrease of its level is capable to cause degradation of all functions of an organism. However to transform this postulate into a basis of the theory of phenoptosis it is necessary to show, that attenuation of bio-energetics predetermines such fundamental processes accompanying aging as decrease of the overall rate of protein biosynthesis, restriction of cellular proliferations (Hayflick limit), loss of telomeres etc. This article is the first step in this direction: the natural mechanism of interaction of overall rate of protein synthesis with a level of cellular bio-energetics is shown. This is built-in into the translation machine and based on dependence of recirculation rate of eukaryotic initiation factor 2 (eIF2) from ATP/ADP value that is created by mitochondrial bio-energetic machine.

Key words: aging program, bioenergetics attenuation, translational machine, eIF2 recirculation, decrease of overall level of protein synthesis

А. В. Макрушин

СТАРЕНИЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ — АТАВИСТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, УНАСЛЕДОВАННЫЕ ОТ МОДУЛЬНЫХ ПРЕДКОВ: ГИПОТЕЗА

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, 152742 пос. Борок Ярославской обл.;
e-mail: makru@ibiw.yaroslavl.ru

Регуляторная физиологическая система унитарного организма (то есть размножающегося только половым путем) включает, наряду с другими, три следующих механизма, гарантирующих надежность прерывания течения его жизни: 1) старение; 2) рак; 3) дезинтеграция, происходящая в организме под влиянием факторов, сила действия которых превосходит его приспособительные возможности. Эти три механизма унаследованы от модульных (то есть размножавшихся не только половым, но и бесполом путем) предков, у которых происходившие в организме разрушительные процессы были обратимыми. Превращение механизмов обратимой дезинтеграции в механизмы дезинтеграции необратимой — следствие прогрессивной эволюции.

Ключевые слова: старение, канцерогенез, эволюция, бесполое размножение, модульные организмы

По существующим представлениям, судьба полового и бесполого размножения в ходе эволюции *metazoa* была разная. Половое размножение сохранялось на протяжении всей эволюции. Способность же к бесполому размножению после достижения организмом определенного уровня сложности в разных эволюционных линиях *metazoa* исчезала. Но бесследно ли? Или же следы его остались, но в таком виде, что их природа до сих пор не понятна? Основанием для второго предположения является то, что механизм полового размножения в ходе эволюции сильно изменялся. Его различия у видов, находящихся на вершине эволюционного дерева *metazoa* и у его основания, столь большие, что потребовались усилия многих поколений исследователей, чтобы понять, что гаметогенез и слияние гамет — процессы универсальные.

Бесполое размножение — это формирование из комплекса соматических клеток новых особей [4]. У сидячих видов, то есть губок, стрекающих, мшанок, внутрипорошицевых и у колониальных асцидий, новые особи не теряют физиологической связи с материнским организмом и поэтому называются модулями организма. У них две программы бесполого размножения: первая реализуется во время благоприятного для жизни сезона и заключается в формировании активно функционирующих

модулей; вторая реализуется перед наступлением неблагоприятного сезона и заключается в формировании диапаузирующих модулей. У губок ими являются геммулы, у стрекающих — подоцисты, у мшанок — статобласты, у внутрипорошицевых и асцидий — зимующие почки.

Жизненная стратегия модульных сидячих животных схожа с жизненной стратегией растений. Рост растений, как и модульных животных, — это формирование новых модулей, сохраняющих физиологическую связь с материнским организмом. Модули у растений тоже делятся на активно функционирующие (облиственные побеги) и покоящиеся (почки, клубни, корнеплоды, луковицы, корневища). Бесполое размножение модульных животных и растений всегда сопровождается происходящими в организме разрушениями. Но они у них обратимы [4, 10]. Конвергентное сходство жизненной стратегии модульных животных и растений дает основание думать, что в основе их регуляторной физиологической системы лежат сходные механизмы. Поэтому сведения о бесполом размножении растений следует учитывать при обсуждении судьбы бесполого размножения животных.

Первыми на Земле *metazoa* были модульные сидячие виды [2, 16]. Унитарный организм (то есть размножающийся только половым путем) — это модуль модульного организма, утративший способность размножаться бесполом [8]. Программа его онтогенеза — это жизненная программа модуля модульного организма. Цель статьи — обсудить, как в ходе эволюции сформировались механизмы, делающие прекращение онтогенеза унитарного организма неотвратимым. Для этого рассматриваются разрушительные и сопровождающие их процессы в модуле модульного организма. Затем эти процессы сравниваются с разрушительными и сопровождающими их процессами, происходящими в унитарном организме.

Первая программа бесполого размножения сидячих модульных животных и ее преобразование в ходе эволюции

Образование новых модулей у модульных животных осуществляется почкованием. Почка — это комплекс тканей родительского модуля, обособившихся, чтобы дать начало новому модулю [4]. Клетки этих тканей, прежде чем дифференцироваться в новых направлениях, дедифференцируются. Их деления при образовании новых модулей на первых порах носят палинтомический характер. Новообразование модулей ведет к постепенному старению родительских модулей. Их старение у животных, как и у растений, происходит в результате процесса, называемого апикальным доминированием. Суть его заключается в том, что большую часть питательных веществ, имеющихся в организме, потребляют новообразующиеся модули. Родительские же модули недополучают их и из-за этого постепенно разрушаются, то есть стареют.

Но старение модулей модульных животных и растений, в отличие от старения унитарного организма, не ускоряет эволюцию, так как отмирающие модули образуют себе на смену новые генетически идентичные им модули, и генета (совокупность модулей, возникших из одной зиготы) продолжает существовать. Функция старения модулей у модульного животного иная. Во время благоприятного для жизни сезона оно обеспечивает его приспособление к меняющемуся окружению. Из-за изменения течений, роста рядом прикрепленных модульных животных или растений и других причин некоторые модули оказываются в положении, затрудняющем им сбор корма. Затраты энергии на поддержание их структуры и функционирования перестают окупаться. Замена этих модулей другими, находящимися в других местах модульного организма, изменяет его форму и позволяет собирать корм более производительно. Так же, то есть путем отмирания одних модулей и образования вместо них других, изменяет форму растение, когда часть его побегов оказывается затененными.

Замена одних модулей другими — это омоложение модульного организма. Благодаря ему модульный организм потенциально бессмертен [20]. Теория Вейсмана, согласно которой бессмертны гаметы, а сома смертна, справедлива только для унитарных организмов. У модульных бессмертна и сома. Эволюция идет путем отбора генет, а не модулей. Если генета представлена многими модулями, отбор замедляется. Когда способность к бесполому размножению у *metazoa* была утрачена, то

есть они стали унитарными, программа старения, сопровождавшего бесполое размножение, сохранилась. Она и стала программой старения унитарного организма, которая является частью атавистической программы бесполого размножения модуля модульного организма.

Вторая программа бесполого размножения сидячих модульных животных

При реализации первой программы бесполого размножения модуль стареет медленно. Он, прежде чем прекратить свое существование, образует поочередно несколько дочерних модулей. При реализации же второй программы модуль стареет быстро. Разрушаясь, он образует только один дочерний модуль, диапаузирующий, или одну порцию диапаузирующих дочерних модулей и после этого прекращает свое существование. Вещества его тела служат для роста готовящихся к диапаузе модулей [4]. Этот отток ресурсов организма от активно функционирующих модулей и их приток к растущим, готовящимся к диапаузе модулям позволяет ему избавляться от бесполезных во время неблагоприятного сезона структур. Так же перераспределяют ресурсы организма при подготовке к сезонному ухудшению среды растения. У деревьев и кустарников опадают листья. У травянистых растений отмирает надземная часть. Питательные вещества из отмирающих модулей у них тоже переходят в готовящиеся к покою модули.

Диапаузирующие модули сидячих модульных животных образуются, как и активно функционирующие модули, почкованием [4]. Они по строению схожи с ранними зародышами, возникшими из зиготы. У губок они напоминают морулу, у других модульных сидячих животных — бластулу или гастролу [5]. Для объяснения причины наступления у них диапаузы на раннем этапе развития следует учесть, что многие унитарные примитивные виды (например, турбеллярии, коловратки, низшие ракообразные) диапаузируют тоже в эмбриональном состоянии. Но у них диапаузируют зародыши, возникшие не из соматических клеток, а из зиготы. Эти зародыши называются латентными яйцами. Обычно это бластулы или гастролы [5].

Диапаузировать на ранней стадии развития не выгодно. Диапаузирующему организму важно с возвращением благоприятных для жизни условий как можно быстрее приступить к использованию ресурсов среды. Задержка грозит тем, что другие организмы, раньше его начавшие их использовать, займут экологическую нишу. Виды же, у которых

диапаузируют зародыши, вынуждены драгоценное в начале благоприятного для жизни сезона время тратить на завершение своего развития.

Однако сходство строения диапаузирующих модулей и латентных яиц свидетельствует, что такое строение покоящихся стадий примитивных беспозвоночных наиболее соответствует возможностям переживания ими неблагоприятного времени года. И вот почему. Развитие организма или модуля — это рост его упорядоченности. Упорядоченное состояние поддерживается за счет системного ответа на внешние воздействия, то есть за счет процессов, основанных на взаимодействии тканей. Механизмы системного ответа у примитивных видов очень несовершенны. Эти животные не могут обеспечивать сохранность своего тела при сильном действии повреждающих факторов. Поэтому они вынуждены основывать стойкость своих покоящихся стадий не на системной регуляции, а на индивидуальной устойчивости клеток, то есть диапаузировав на самых ранних этапах развития.

Приспособительный смысл палинтомических делений формирующегося, готовящегося к диапаузе модуля заключается в том, что их клетки избавляются от дифференцирования, которым они обладали, будучи составными частями тканей родительского организма. Диапауза наступает, когда от этого прежнего дифференцирования ничего не остается, а к новому дифференцированию клетки еще не приступили. Переход клеток от выполнения специализированных функций в системе родительского организма, то есть от дифференцированного состояния к недифференцированному, означает переход на эволюционно более древние и более устойчивые пути метаболизма.

Приспособительный смысл разрушительных процессов, происходящих при реализации второй программы бесполого размножения

Модуль модульного животного разрушается не только при образовании им новых модулей, но и из-за голода, а также из-за действия повреждающих факторов, превышающих его возможности противостоять им. При этом, все его дифференцированные клетки разрушаются или дедифференцируются, и модуль превращается в редукционное тело, напоминающее ранний зародыш. Процесс этот называется редукцией. Из редукционного тела при прекращении действия повреждающего фактора модуль восстанавливается [4, 10].

Разрушение модуля, происходящее при редукции и при подготовке модульного организма к сезонному ухудшению среды, обусловлено термодинамически. Организм должен обладать достаточно совершенной системой регуляции, чтобы быть способным в неблагоприятных условиях совершать работу, направленную на поддержание своей целостности. Чем организм сложнее, тем больше у него градиентов, тем больше ему надо энергии для сохранения своей структуры. Энергетические возможности модульного организма невелики. При действии повреждающих факторов и при голоде метаболизм у него нарушается, энергетические возможности из-за этого снижаются и становятся недостаточными для противодействия разрушающим его силам. Дезинтеграция модулей модульного организма при подготовке к сезонному ухудшению среды и образование вместо них очень просто устроенных диапаузирующих модулей — это приспособление к еще не наступившим изменениям в природе. Оно является частным проявлением широко распространенного среди примитивных беспозвоночных явления адаптивной дезинтеграции [6, 7]. Конвергентное сходство покоящихся модулей и латентных яиц объясняется тем, что это два разных способа решения одной и той же задачи — снижения энергетических потребностей в преддверии неблагоприятного сезона. Модульные сидячие животные снижают их упрощением структуры модулей организма, унитарные примитивные виды — упрощением структуры особей популяции. Низкий уровень организации при отсутствии совершенной системы физиологической регуляции более устойчив, чем высокий.

Преобразование в ходе эволюции второй программы бесполого размножения

Когда в ходе эволюции способность к бесполому размножению у *metazoa* из-за роста целостности организма была утрачена и они стали унитарными, программа образования диапаузирующих модулей у них преобразовалась в канцерогенез [8]. Два предыдущих раздела статьи объясняют, почему он протекает так, а не как-нибудь иначе. Малигнизация — это не выход клеток из-под контроля организма, а наоборот, результат работы его регуляторных физиологических механизмов. Разрушения, происходящие в пораженном опухолью организме, — это атавистический процесс перераспределения ресурсов в нем, отток их от опухоленосителя и приток к атавистическому растущему, готовящемуся к диапаузе модулю, то есть к опу-

холи. Разрушение опухоленосителя — это частное проявление широко распространенного среди примитивных беспозвоночных явления дезинтеграции [6, 7], которая у них обеспечивает поддержание в ухудшившейся среде энергетического баланса организма. Организм опухоленосителя быстро разрушается потому, что быстро разрушался модуль модульных предков при образовании покоящихся модулей.

Деления опухолевых клеток сходны с палинтомическими делениями клеток зародыша потому, что опухоль — это и есть зародыш, зачаток атавистического, готовящегося к диапаузе модуля. Размножение опухолевых клеток, по мнению А. И. Голубева и В. М. Дильмана [1], является подготовкой к дифференциации. Авторы не объясняют, к какой именно дифференциации готовятся опухолевые клетки. Исходя из изложенного, следует, что их размножение — это, как и размножение клеток формирующегося готовящегося к диапаузе модуля, подготовка к дифференциации, происходящей при образовании тканей нового модуля. Клетки зародыша модуля, прежде чем дифференцироваться, прекращают делиться, и зародыш модуля впадает в диапаузу. Клетки опухоли тоже иногда утрачивают свою злокачественность. Эта остановка их размножения представляет собой атавистический переход опухоли в диапаузирующее состояние.

Подготовка модуля модульного организма к сезонному ухудшению среды — это ответ на сигнальные факторы, предупреждающие организм о предстоящем в природе неблагоприятном для него изменении. Факторы, вызывающие эту подготовку, могут быть химической, физической и биологической природы. Этим объясняется разнообразие причин возникновения опухоли, которая может возникнуть тоже из-за химических, физических и биологических влияний. Опухолевые клетки сохраняют жизнеспособность в высушенном состоянии [15, 17–19]. Этими свойствами они обладают потому, что покоящиеся модули модульных животных у некоторых видов тоже сохраняют жизнеспособность, будучи обезвоженными [5].

Представление, согласно которому все клетки опухоли являются потомками одной единственной трансформировавшейся клетки, противоречит предлагаемой гипотезе. Если опухоль — атавистический, готовящийся к диапаузе модуль, то она, как и модуль, возникает в результате дедифференциации и размножения клеток обособившейся в организме многоклеточной зоны. Канцерогенез, как и

старение, — это реализация атавистической программы бесполого размножения.

Неизбежность прекращения существования унитарного организма

Таким образом, существует три механизма разрушения модуля модульного организма: первый — старение, происходящее во время благоприятного для жизни сезона; второй — подготовка к сезонному ухудшению среды; третий — редукция. Эти три механизма при переходе *metazoa* из модульного состояния в унитарное сохранились. Первый преобразовался в старение, второй — в рак, третий — в разрушение организма, подвергнувшегося действию повреждающих факторов, превышающих его приспособительные возможности.

Программа старения модуля модульного животного и растения обязательная. Следовательно, обязательная и программа старения унитарного организма. Неотвратимость прекращения его существования гарантируется, кроме того, еще двумя другими унаследованными от модульных предков механизмами. Генеты модульных организмов в естественных условиях в массе из-за разных причин прекращают свое существование. Но у них шанс жить вечно есть. У унитарных организмов его нет.

Возникновение у унитарных видов механизмов необратимого разрушения организма — следствие их успехов в борьбе за ресурсы среды. В ходе ее побеждали особи, лучше других их использовавшие. А лучше использовали их те, у которых дифференциация клеток была выше. Поэтому отбор поддерживал рост числа типов клеток в организме. Однако с ростом числа их типов, то есть с ростом дифференциации клеток, происходило снижение их метапластических способностей. Когда это снижение достигло определенного уровня, бесполое размножение и восстановление разрушенного организма из редукционных тел и из диапаузирующих модулей стали невозможными. Тормозящее эволюцию обратимое разрушение модуля модульного организма превратилось в ускоряющее эволюцию необратимое разрушение унитарного организма.

Рекомендации

Изложенное указывает на еще не используемые возможности поиска средств воздействия на ход старения и канцерогенеза. Разрушительные процессы, происходящие при старении и раке, — это атавистические разрушительные процессы, яв-

ляющиеся частью механизма бесполого размножения модульных предков. Поэтому для того, чтобы понять регуляторные физиологические механизмы, управляющие этими патологическими процессами, и вмешиваться в их работу, следует понять механизмы, управляющие у животных и растений бесполом размножением. Поскольку рак — это атавистический процесс образования диапаузирующих модулей, то при поиске средств его излечения следует учитывать все достижения в изучении диапаузы беспозвоночных и состояния покоя растений. Регрессия опухоли — это атавистический переход от незавершенного процесса подготовки к сезонному ухудшению среды к активной жизни. Такой переход описан у асцидий [12, 14] и у топинамбура (подсолнечника клубненосного) [13], и его расшифровывание — путь к пониманию механизма регрессии опухоли.

Приведенные рассуждения и рекомендации основаны на трех исходных положениях, из которых вытекает все остальное: 1) патологические процессы — это процессы нормального онтогенеза предков [9]; 2) первыми на Земле *metazoa* были модульные сидячие виды [2, 16]; 3) унитарный организм — это модуль модульного организма, утративший способность размножаться бесполо [8]. Второе положение оспаривается [3, 4], а третье вытекает из второго. Прочитавшим эту статью следует иметь в виду, что в основе предлагаемой гипотезы лежат взгляды, разделяемые не всеми биологами.

Литература

1. Голубев А. И., Дильман В. М. Онкофакторы (трансформирующие факторы роста) // *Вопр. онкол.* 1983. Т. 29. № 5. С. 86–98.

2. Захваткин А. А. Сравнительная эмбриология низших беспозвоночных (Источники и пути формирования индивидуального развития). М.: Сов. наука, 1949.

3. Иванов А. В. Происхождение многоклеточных животных: Филогенетические очерки. Л.: Наука, 1968.

4. Иванова-Казас О. М. Бесполое размножение животных. Л.: Изд-во ЛГУ, 1977.

5. Макрушин А. В. Ангидробиоз первичноводных беспозвоночных. Сохранение жизнеспособности в высушенном состоянии. Л.: Наука, 1985.

6. Макрушин А. В. Об адаптивной дезинтеграции беспозвоночных // *Журн. общ. биол.* 1996. Т. 57. № 1. С. 87–90.

7. Макрушин А. В. Адаптивная роль реакций, ведущих к саморазрушению // *Журн. эволюц. биохим.* 1997. Т. 33. № 2. С. 250–252.

8. Макрушин А. В. Как и почему возникли механизмы старения и онкогенеза: гипотеза // *Журн. общ. биол.* 2008. Т. 69. № 1. С. 19–24.

9. Орбели Л. А. Эволюционный принцип в физиологии // В сб.: *Проблемы советской физиологии, биохимии и фармакологии. VII Всесоюз. съезд физиологов, биохимиков и фармакологов. Кн. 1.* М.: Изд. АН СССР, 1949. С. 8–13.

10. Токин Б. П. Регенерация и соматический эмбриогенез. Л.: Изд. ЛГУ, 1959.

11. Чайхалян М. Х. Фотопериодическая и гормональная регуляция клубнеобразования у растений. М.: Наука, 1984.

12. Burighel P., Brunetti R., Zaniolo G. Hibernation of the colonial ascidian *Botrylloides leachi* (Savogni): histological observation // *Boll. Zool.* 1976. Vol. 43. P. 293–301.

13. Courduroux J. C. Mechanisme physiologique de la tubérisation du topinambour // *Bull. Soc. franc. Physiol. Veget.* 1966. Vol. 12. P. 213–232 (цит. по [11]).

14. Drisch H. Studien über Regenerationsvermögen der *Clavelina lepadiformis* // *Arch. Entw.-Mech. Org.* 1902. Bd. 14. S. 247–287.

15. Gye W. E. The propagation of mouse tumours by means of dried tissue // *Brit. med. J.* 1949. № 4603. P. 511–515.

16. Larsson Sv. G. Reflection in the system of Deuterostomia // *Skript. Univ. Zool. Mus. København.* 1963. Vol. 20. P. 5–128.

17. Parkes A. S. Freeze-drying of viable grafts: problems and possibilities // *Recent research in freezing and drying / Parkes A.S., Smith A.U. (eds.) Oxford: Blackwell, Scientific Publication, 1960. P. 304–311.*

18. Passey R. D., Dmochowski L., Lasnitski I., Millard A. Cultivation in vitro of frozen and desiccated mouse tumour tissue // *Brit. med. J.* 1950. № 4689. P. 1136–1137.

19. Sugiura K., Tartalani A. J., Sargent M. G. Viability of various solid and ascites tumours after prolonged storage at -78°C // *Cryobiology.* 1968. Vol. 4. № 4. P. 177–183.

20. Wikberg S. Fitness in clonal plants // *Oikos.* 1995. Vol. 72. № 2. P. 293–297.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 228–232

A. V. Makrushin

SENESCENCE AND CANCEROGENESIS AS ATAVISTIC PROCESSES INHERITED FROM MODULAR ANCESTORS

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS, Borok, Yaroslavl'skaya obl., 152742;

e-mail: makru@ibiw.yaroslavl.ru

The regulatory physiological system of a unitary organism, i.e. the organism reproducing only by sexual way, includes along with others the three following mechanisms guaranteeing reliability of the life interruption: 1) senescence; 2) cancer; 3) disintegration in the organism under influence of the factors which action exceeds adaptive abilities of the organism. The three mechanisms are inherited from modular, i.e. reproduced not only by sexual but by asexual way, ancestors, in which organisms the destructive processes were reversible. The conversion of the mechanisms of reversible disintegration into mechanisms of irreversible disintegration is the consequence of progressive evolution.

Key words: *senescence, cancerogenesis, evolution, asexual reproduction, modular organisms*

G. P. Gladyshev

WHAT IS LIFE? BIO-PHYSICAL PERSPECTIVESN. N. Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, 4 ul. Kosygina, Moscow 117977, Russia;
e-mail: academy@endeav.org

Life arises and develops in gravitationally bound atomic systems, under certain conditions, in the presence of the inflow of energy. A condition of structural dynamic reactivity to the energy inflow qualifies what are anthropomorphically considered as «alive objects».

Alive objects, in this perspective, include such rudimentary animate atomic structures as the retinal molecule $C_{20}H_{28}O$ to the herpes simplex virus $C_{102}H_{152}N_{26}O_{29}$ to the human being, a twenty-six element atomic structure, which can be quantified further as thermodynamic quasi-closed supramolecular systems, which are part of natural open systems.

These systems appear and evolve in periodic conditions near to internal equilibrium. This systems attribute of dynamic life can be understood further by the determination and use of mathematical «state functions», which are functions that quantify the *state* of a system defined by the ensemble of physical quantities: temperature, pressure, composition, etc., which characterize the system, but neither by its surroundings nor by its history.

In this view, the phenomenon of a life is easily understood as a general consequence of the laws of the universe, in particular, the laws of thermodynamics, which in the geocentric perspective translate to a formulation of «hierarchical thermodynamics» and a «principle of substance stability». The formation of living thermodynamic structures, in short, arises on the nanolevel by a constantly varying environment that causes variety of living forms.

The definition of a life as the bio-chemical-physical phenomenon can thus be given on the basis of the exact sciences, i. e. chemistry, physics, and thermodynamics, without mention of numerous private attributes of a living substance and without physically baseless models of mathematical modeling, such as Prigoginean thermodynamics.

Key words: life, evolution, aging, thermodynamics, nanostructures, environment

Introduction

The term «life» is modern conception, an etymological adaption of the Old English *libban* «to live» from before the 12th century. Into the late 18th century, with the advances in the sciences of chemistry and biology, life came to be divided generally into three mutually exclusive categories: non-life, plant-life, and animal-life. With the 1859 publication of the *Origin of Species*, by English naturalist Charles Darwin, a more unified view soon emerged [13]. In particular, in an 1871 letter written by Darwin to English botanist Joseph Hooker, Darwin made the suggestion that the

original spark of life may have begun in a «warm little pond, with all sorts of ammonia and phosphoric salts, lights, heat, electricity, etc. present, so that a protein compound was chemically formed ready to undergo still more complex changes».

This passage set forth a great divide, in the minds of the scientific community, that life is a result of the interaction of heat with chemical systems and that a certain description of this «heat interaction» with systems of atoms can be found so as to exactly quantify the term life [13–16].

Although this assumed description is yet to be agreed upon, the concept of «biological life» or simply «life» is central in all divisions of the biological and related sciences [2]. Terminological examples include: life, lifetime, healthy life, lifespan, lifestyle, etc., the use of which can be found predominately in the science of gerontology, the comprehensive study of aging and the problems of the aged. The term «life», however, is sufficiently ambiguous, since a strict universal determination of this concept does not exist [2, 13–16].

The definition of the mentioned term, from the position of the general laws of nature [3–7] and in view of the motive power of heat in the development of biological material, would allow from this united position, a more in depth study of the great diversity of biological systems and phenomena. This work is an attempt to formulate an idea about life as bio-physico-chemical phenomenon, taking into account the results of the thermodynamic theory of evolution and aging of living systems, whose bases were placed by the author, beginning in the late 1970's. [1, 4–12].

Variety of the life

There are many different determinations of the phenomenon of biological life as one of the forms of existence of material. The number of these determinations uses the data about the chemical composition of living objects, the exchange of substances of living material, storage and transmission of genetic information

and different signs, which characterize the phenomenon of life [1, 4–15].

There are sufficiently many such «signs». One will sometimes note that none of the existing determinations of life are universal. It is possible, however, to give the determination of life on the basis of the general laws of nature, relying on contemporary achievements in the region of exact science: physics, physical chemistry, and physical chemistry biology.

If one takes into account that life, as an inherent component of the heat-driven evolution of material, then it is expedient to determine the phenomenon of life from the position of what is called the «motive power» of the evolution of material systems. The term motive power, from French physicist Sadi Carnot's 1824 *On the Motive Power of Fire*, represents the mechanical effect of heat or the useful movement driven by such interaction [13].

This motive power, in the systems-within-systems point of view, seems to act as a «double force». The motive power determines the overall directivity of processes in the system, such as in the total evolution the biosphere, movements induced due to the inflow of energy into the system from without, and the action of individual multi-directional spontaneous processes, which take place strictly in locations (or subsystems) of the greater system itself [1–8]. The processes indicated are observed at the nano-level (atomic level) and the highest hierarchical levels (social levels) of the organization of living material.

Thus, taking into those laws of science, which determine the laws of nature, in particular the laws of thermodynamics, life can be characterized as **a manifestation of one of the forms of existence of material, inherent with the rotation of the substance, which takes place under the action of energy flow, predominately solar energy.**

In the early stages of this dynamic life manifestation, smaller atomic structures and systems interacted, under the action of external energy input, in such a manner that the synthesis of larger structure resulted, from higher stable chemical components. An example of this process is photosynthesis, in which the larger structure glucose $C_6H_{12}O_6$ is synthesized from the more energetically stable components of carbon dioxide CO_2 and water H_2O .

In this view, life is a phenomenon caused by the synthesis of comparatively low-stability chemical substances. It is characterized by the appearance, under the effect of the physical factors, such as pressure, temperature, volume, etc., and by the action of thermodynamic forces, particularly enthalpy (reaction heat)

and entropy (dissipation heat), of poly-hierarchical structures, which consist of diverse natural organic and inorganic compounds such as water.

This view substantiates, in contrast to the older Prigoginean view of life as a far-from-equilibrium dissipative structure, that real living structures appear and function, in essence, under periodic close-to-equilibrium conditions, a state which exists inside most living objects. Moreover, life is possible only in the specific ranges of temperature, pressure and other thermodynamic environmental parameters. Life, subsequently, appears and is developed in the close-to-equilibrium range and can be viewed as dynamic molecular structures, considered as quasi-closed systems in the thermodynamic sense, which form part of natural open systems [1, 3–7].

In addition life develops under the effect of various mechanical factors, notable gravitational effects, e.g. Coriolis «force» actuates the formation of chiral molecular and supramolecular formations. One should emphasize that organisms, populations and other higher structures are also complex supramolecular formations; the «human molecule» (human being), and its social collectives, for instance, are the molecular subjects in the science of human chemistry [13–16]. Environmental conditions force the exchange of substances for all hierarchical levels of living material, which contributes to appearance and retention of the living beings. **In the compressed general formulation, life can be defined as the phenomenon of existence of the energy-dependent dynamic hierarchic structures, mandated by thermodynamics.**

Life or its phenomenon as claimed by kinetic hierarchical thermodynamics assumes that the functions of evolving systems being investigated make real physical sense. In other words, from the position of thermodynamics, most living systems exist close to equilibrium range of evolutionary development and their conversion in time can be characterized with the aid of the appropriate functions of these systems. It is for these purposes convenient to use the specific Gibbs free energy function, which is the thermodynamic potential unique to closed isothermal-isobaric systems, in the determination of the formation of living near-equilibrium systems.

In this logic, living systems, using a comparative methodology from chemistry, can be viewed as types of growing or fanning, beginning at the nano-level, poly-hierarchical «chromatographic columns», in the sense that components that enter and evolve in a system, moving through hierarchies, migrate along paths

of minimum free energy towards the most stable bonding or reaction sites.

An example of the «chromatographic column» model is a social hierarchy in which the selection of the most stable organism structures is observed. This selection is initiated by physical factors by means of interaction of the supramolecular receptors of organism, which receive the inflows of substance and energy on the nano and macrolevels. As well known, similar living columns are the quasi-equilibrium quasi-closed systems. The laboratory (inanimate) columns, widely utilized in the molecular equilibrium (quasi-equilibrium) chromatography, are similar systems. Thus, the inflow of energy from without, and also the thermodynamics of the processes of the formation of close to the equilibrium hierarchical systems, determines appearance and maintenance of life. Chromatographic life, similar to our life, can appear only under specific conditions on the celestial bodies. However, the separate molecular and supramolecular components of living systems can appear and exist in diverse conditions, such as, for example, the space conditions.

Functions of state and directivity of processes, according to the general laws of nature, which control the processes of development and self-reproduction of living systems, are significantly simplified because of the known ideas about the functions of state. Functions of state have the total differentials and unambiguously characterized systems at the assigned points of space with the constancy of the known physical and thermodynamic parameters. **The use of functions of state opens the way of realizing the unity of evolutionary development and conversion of material on a strict physical basis** [1, 4–16].

With the inflow of energy into the system a change of the functions of state characterizes the transformation of this system as a result of the processes. Functions of state also make it possible to establish the direction of spontaneous processes and to determine the degree of their perfection inside the system itself. Changes in the specific functions of state in the characterization of the formations of systems, characterizes changes in the thermodynamic stability of these systems. Thus, change in the time of the specific value of the Gibbs function of the formation of a living system, as a result of a variation in its chemical composition, is connected with the thermodynamic mechanism of a change in the structural stability of this system.

The mentioned stability approaches to the process of directional maximum sublimity, which corresponds to the minimum value of the Gibbs function of the formation of the mentioned supramolecular system. With

the reaching this maximum value of stability the process of the vital activity of the matching system completes, and the mentioned system degrades with the formation of other chemical substances comparatively stable, under the environmental conditions, substances newly included in rotation.

The thermodynamic description of the rotation of substance for the thermodynamic description of the processes of the beginnings of life and its evolution, as has already been indicated, is convenient to use the Gibbs function (free energy of Gibbs) of the formation of the system. The specific value of this function in the ontogenesis and the phylogenesis (evolution) approaches the minimum. Aging organisms and evolution of living systems flow in accordance with the law of temporary hierarchies and the principle of the stability of substance. The thermodynamic mechanisms, i. e. mechanisms of a change of the functions of state of systems in time, of evolutionary transformations in the living systems, and in the rotation of substance as a whole, are considered in the numerous publications of the author [1, 4–12].

Diagrams of the rotation of substance, from the position of hierarchical thermodynamics [1, 4, 12], are represented in various publications. The condition for existences of life must correspond to temperatures, pressures and other physical chemistry environmental parameters, when the strength of chemical bonds in the molecules of the metabolites being of comparatively high, however, it is commensurate with the strength of the connections, which appear with the formation of the structures of organisms.

Supramolecular thermodynamics or nano-thermodynamics, according to the principle of the stability of substance, makes the selection of comparatively chemically low-stability molecules with the formation of the supramolecular structures, which are united in organelle, cell, organisms, population, etc. As has already been indicated, living systems are the growing fanned chromatographic columns, in cells of which molecule undergoes the chemical transformations, which enter the organism. Part of the substance is accumulated in the organism, which is accompanied by its increase. However, the majority of the products of vital activity are derived from the organism. Those removed from molecular system of metabolites are replaced by new similar molecules, which contributes to retention, although transformed, in the living systems.

This article is made to suggest that life can exist under the conditions of our planet when three states of aggregation of water are present. On other planets other forms of life are possible, primitive in essence.

It is possible that a similar primitive life can exist on liquid hydrocarbons or other substances, where it can be claimed by hierarchical thermodynamics.

Conclusions

The phenomenon of life is easy to realize within the framework of the general laws of nature without the use of Prigoginean «non-equilibrium thermodynamics» descriptions of systems at great distances from equilibrium states, which cannot be, in principle, described by means of the functions of state. Life can be studied without the use of ideas of synergetics, nonphysical mathematical models, and known, physically unjustified eclectic concepts.

Life, then, is the phenomenon of existence of the varied energy-dependent molecular dynamic near equilibrium structures, claimed by hierarchical thermodynamics. Life, in various forms of its manifestation, is an inherent component of the evolutionary development of material.

The author expresses the deep gratitude to professors V. N. Anisimov, Libb Thims and K. V. Sudakov for the councils and the support.

References

1. *Гладышев Г. П.* Супрамолекулярная термодинамика — ключ к осознанию явления жизни. Что такое жизнь с точки зрения физико-химика. 2-е изд. Регулярная и хаотическая динамика. М.—Ижевск, 2003.
2. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Л.* Биология. М: Мир, 1993. Т. 3.
3. *Gibbs J. W.* The collected works of J. Willard Gibbs: Thermodynamics. New York: Longmans, Green and Co., 1928. Vol. 1. P. 55–349.
4. *Gladyshev G. P.* On the thermodynamics of biological evolution // *J. theor. Biol.* 1978. Vol. 75. Issue 4. Dec 21. P. 425–441.
5. *Gladyshev G. P.* Thermodynamics theory of the evolution of living beings. Commack, New York: Nova Science Publishers, Inc., 1997.
6. *Gladyshev G. P.* The second law of thermodynamics and the evolution of living systems // *J. Human Thermodynamics.* 2005. Vol. 1. Issue 7. December. P. 68–81.
7. <http://www.humanthermodynamics.com/JHT/Second-Law-Systems-Evolution.html>.
8. *Gladyshev G. P.* Life is inalienable component of matter evolution // *Adv. Geront.* 2005. Vol. 16. P. 21–29.
9. *Gladyshev G. P.* The principle of substance stability is applicable to all levels of organization of living matter // *Int. J. Mol. Sci.* 2006. Vol. 7. P. 98–110.
10. *Gladyshev G. P.* The invited speaker and guest. Lecture. The thermodynamic theory of aging in action: medical nutrition recommendations for patients of any age. *Anti-Aging Therapeutics.* Eds. Dr. R. Klats and Dr. R. Goldman. Volume IX. American Academy of Anti-Aging Medicine (A4M), 2007, Chicago, IL, USA. Chapter 20. P. 135–152.
11. *Gladyshev G. P.* Leonhard Euler's methods and ideas live in the thermodynamic hierarchical theory of biological evolution // *Int. J. appl. Math. Statistics (IJAMAS).* 2007. Vol. 11. № 7, November. P. 52–68.
12. <http://www.eoht.info/page/Hierarchical+thermodynamics> <http://www.scribd.com/doc/8638960/AntiAging-and-Thermodynamics>.
13. <http://www.eoht.info/page/Life> <http://www.eoht.info/page/Aging> <http://en.wikipedia.org/wiki/Life>.
14. *Thims Libb.* The Human Molecule. Morrisville, NC: LuLu, 2008.
15. *Thims Libb.* Human Chemistry. Vol. 1. Morrisville, NC: LuLu, 2007.
16. *Thims Libb.* Human Chemistry. Vol. 2. Morrisville, NC: LuLu, 2007.

Успехи геронтол. 2009. Т. 22, № 2. С. 233–236

Г. П. Гладышев

ЧТО ТАКОЕ ЖИЗНЬ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Институт химической физики им. Н. Н. Семёнова РАН, 117977 Москва, ул. Косыгина, 4;
e-mail: academy@endeav.org

Жизнь возникает и развивается в строго определенных условиях окружающей среды при наличии притока энергии в систему. Живые объекты — динамические квазизакрываемые супрамолекулярные системы (подсистемы) входят в состав природных открытых систем. Они возникают и эволюционируют в условиях, близких к состоянию внутреннего равновесия, когда функции состояния этих объектов имеют реальный физический смысл. Явление жизни легко понять с позиции общих законов природы, в частности — законов иерархической термодинамики и принципа стабильности вещества. Образование живых структур термодинамически востребовано на наноуровне постоянно меняющейся окружающей средой, что обуславливает многообразие живых форм.

Определение жизни, как биофизико-химического явления, может быть дано на основе точных наук, без упоминания многочисленных частных признаков живой материи и формального (физически необоснованного) математического моделирования.

Ключевые слова: жизнь, эволюция, старение, термодинамика, нанотермодинамика, окружающая среда

В. Н. Анисимов, М. А. Забежинский, И. Г. Попович

МОДЕЛИ И МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова Минздравсоцразвития РФ, 197758 Санкт-Петербург, Песочный-2, ул. Ленинградская, 68;
e-mail: aging@mail.ru

В работе рассмотрены современные подходы к изучению эффективности и безопасности потенциальных веществ, увеличивающих продолжительность жизни (геропротекторов). Описан разработанный и апробированный авторами протокол испытаний геропротекторов на мышах. Обсуждаются принципы и критерии доказательности геропротекторных свойств фармакологических препаратов у животных и человека.

Ключевые слова: продолжительность жизни, вмешательство, геропротекторы, мышь, человек

Введение

Увеличение продолжительности активной жизни человека является одной из важнейших задач геронтологии и, в целом, современной профилактической медицины. В настоящее время известно более 20 веществ, получивших название геропротекторов, которые могут увеличивать продолжительность жизни животных [3, 21, 27, 33, 34, 53, 86, 87, 89, 105]. Это название, уже укоренившееся в научной литературе, представляется весьма удачным, поскольку буквально означает «предупреждение старения». В отличие от гериатрических средств, предназначенных для лечения заболеваний у пожилых или улучшения качества их жизни [95], геропротекторы могут и, видимо, должны применяться в молодом и зрелом возрасте в группах лиц с преждевременным старением.

В связи с этим встает вопрос о безопасности длительного применения средств продления жизни, что включает не только непосредственные побочные и токсические эффекты, но и отдаленные последствия, включая развитие новообразований [3, 33, 34, 64, 102]. Этот аспект представляется особенно важным, поскольку именно постарение населения, то есть увеличение в его структуре доли лиц пожилого возраста, обуславливает значительную часть наблюдаемого в нашем веке прироста заболеваемости злокачественными новообразованиями [19]. Поэтому при разработке мер, направленных на увеличение продолжительности жизни

человека, необходимо учитывать возможный риск увеличения при этом частоты возникновения опухолей. Это особенно важно еще и потому, что в популярной и подчас научной литературе широко пропагандируются разнообразные средства для продления жизни и «омоложения» без какого-либо серьезного обоснования и доказательства их эффективности и безопасности [4, 54, 63].

Выбор экспериментальной модели

Наиболее часто используемыми моделями в экспериментальной геронтологии при изучении средств, увеличивающих продолжительность жизни, являются дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*), нематоды (*Caenorhabditis elegans*), плодовые мухи (*Drosophila melanogaster*), короткоживущие рыбы (*Nothobranchius furzeri*), мыши (*Mus musculus*) и крысы (*Rattus norvegicus*). Вместе с тем, успешно применяются также собаки и обезьяны. Следует отметить, что низшие организмы являются постмитотическими и, несмотря на значительное удобство их использования в качестве моделей, прежде всего связанное с короткой продолжительностью жизни и относительной дешевизной, не могут служить адекватной моделью физиологических процессов, наблюдающихся при старении у человека [69, 100]. Физиология млекопитающих животных (в частности, грызунов) имеет значительное сходство с физиологией человека (табл. 1), особенно на клеточном уровне, что позволяет широко использовать их для тестирования средств, увеличивающих продолжительность жизни и влияющих на развитие возрастной патологии, прежде всего новообразований, а результаты таких исследований позволяют давать научно обоснованные рекомендации по их применению у человека [45, 100].

Крысы и мыши являются весьма удобными и часто используемыми моделями при изучении геропротекторов [66, 76, 84]. Их легко содержать

Сравнительные характеристики старения мыши и человека

Параметр	Мышь	Человек
Средняя продолжительность жизни	2–2,5 года	70 лет
Максимальная продолжительность жизни	3–3,5 года	122 года
Основные причины смерти	Нефросклероз, опухоли, кардиопатии	Сердечно-сосудистые заболевания, рак
Кумулятивная частота рака	30 %	30 %
Наиболее частый тип опухолей	Мезенхимальные*	Эпителиальные
Наличие теломеразы	Теломераза отсутствует в большинстве типов клеток	Теломераза отсутствует в большинстве типов клеток
Длина теломер	150 тысяч пар оснований	35 тысяч пар оснований
Изменение длины теломер с возрастом	Не укорачиваются или укорачиваются в зависимости от линии	Укорочение 20–60 пар оснований в год
Активность <i>TERT</i>	Стимулирует рак	Ингибирует рак
Инактивация <i>p53</i>	Иммортализирует клетки	Увеличивает продолжительность репликативной жизни
Действие теломеразы на теломеры	Неэффективно, так как длинные теломеры	Элонгация теломер
Клетки <i>in vitro</i>	Репликативное старение типа <i>M1</i>	В эпителии молочной железы отсутствует <i>M1</i> репликативное старение, но преимущественно <i>M2</i>
Эффективность репарации ДНК	Относительно низкая	Относительно высокая
Частота мутаций	Высокая	Низкая
Хромосомные aberrации	Часто	Редко
Количество старых (<i>SA-βgal+</i>) клеток в тканях	Увеличение с возрастом	Увеличение с возрастом
Функция иммунной системы при старении	Снижение	Снижение
Тип овуляции	Спонтанный	Спонтанный
Репродуктивная функция в старости	Менопауза	Персистирующий эструс или анэструс

* У некоторых линий — эпителиальные опухоли (молочная железа, печень)

и разводить, продолжительность их жизни сравнительно невелика (2–3 года для мышей и 3–4 года для крыс). Существует большое число разнообразных генетически чистых (инбредных) линий мышей и крыс с хорошо охарактеризованным фенотипом и патологией (см., например, Jackson Laboratories Strain Information, <http://jaxmice.jax.org/jaxmicedb/html.inbred/shtml>). Мыши — первый вид млекопитающих, геном которых был полностью расшифрован в апреле 2002 г.

Выбор линии (генетической характеристики) животных, безусловно, является наиболее существенным при планировании эксперимента. Несмотря на то, что в настоящее время имеется большое число доступных линий мышей и крыс, каждая из которых имеет свои сильные стороны, приходится констатировать, что не существует одной модели, пригодной для всех исследований

по старению. Преимуществом инбредных линий является их генетическая однородность, то есть все особи в исследуемой и контрольной популяциях идентичны генетически, что позволяет уменьшить число животных в группах. Выбор той или иной линии может определяться конкретными задачами исследования или такими их особенностями, которые дают дополнительную важную информацию для ответа на вопрос, поставленный при планировании эксперимента. Например, мыши линий *BALB/cbyJ*, *C57BL/6J* и *DBA/2J* гомозиготны по гену *Cdh23^{ahl}*, отвечающему за возрастную потерю волос (облысение). Однако если мыши первых двух линий начинают лысеть в возрасте 1 года, то мыши *DBA/2* — в возрасте 3 мес. Это означает, что и другие гены влияют на действие гена *Cdh23^{ahl}*, и они могут быть мишенью для поиска средств, замедляющих возрастное облысение.

Существенным недостатком инбредных крыс и мышей является специфичность и высокая частота развивающихся у них патологических процессов, особенно опухолей. Так, примерно у 50 % самцов крыс линии *F344* ко времени их гибели развиваются спонтанные лейдигомы яичка и лейкозы, тогда как у крыс линии *Brown Norway* такие новообразования практически не встречаются [1, 71]. У самцов мышей линии *СВА* с высокой частотой развиваются гепатокарциномы, тогда как у самок они выявляются в единичных случаях.

Принято считать, что у мышей спонтанные опухоли развиваются значительно чаще, чем у людей, при этом если у человека преобладают эпителиальные опухоли (карциномы), то у мышей доминируют саркомы и лимфомы [79, 85]. На самом же деле, среди линий мышей существуют такие, у которых существенно преобладают именно карциномы. Так, у самок мышей *СВА*, *СЗН* или *DBA/2* в 75–100 % случаев развиваются спонтанные аденокарциномы молочной железы, редко наблюдаемые у мышей линий *C57BL/6J* или *129/Sv*, а частота лимфом варьирует от 1,3 до 30,8 % [32, 90, 93]. В табл. 2 приведены примеры, свидетельствующие о большой вариабельности как продолжительности жизни, так и общей частоты спонтанных опухолей у мышей разных линий. Воздействие, которое снижает частоту развития какого-либо одного часто встречающегося типа спонтанных опухолей, будет увеличивать продолжительность жизни животных, но может не оказывать ника-

кого влияния на нормальное старение и долголетие у мышей.

Гибридные популяции мышей более устойчивы к возрастной патологии, чем чистые линии, и первые генерации (*F1*), полученные при скрещивании инбредных мышей, также генетически однородны, что позволяет минимизировать число мышей в группах.

В некоторых исследованиях используют аутбредных (беспородных) мышей, которые более генетически гетерогенны, что, безусловно, положительно. Однако при использовании таких мышей их нужно большое количество в группах, так как в противном случае некоторые аллели могут быть утрачены, и генетическая характеристика со временем может измениться. Следует отметить, однако, что популяции аутбредных животных поддерживают так называемой стадной разводкой, то есть они достаточно генетически близки.

Одной из возможных моделей, несколько уменьшающей недостатки как инбредных, так и аутбредных линий мышей, являются так называемые генетически гетерогенные животные, второе поколение (*F2*) которых является потомством четырех, а *F3* — потомством восьми родительских линий [79].

В последние годы в экспериментальной геронтологии при тестировании геропротекторов стали широко использовать генетически модифицированных (трансгенных, нокаутных, мутантных) мышей с измененной продолжительностью жизни. Аргументом против их использования с такой це-

Таблица 2

Продолжительность жизни и частота спонтанных опухолей у мышей разных линий [33, 90, 93]

Линия	Пол	Продолжительность жизни, нед			Частота опухолей, %
		средняя	медиана	максимальная	
<i>LP</i>	Самцы	103	107	142	26,0
	Самки	99	102	127	30,0
129	Самцы	117	126	154	7,3
	Самки	104	111	148	21,1
<i>DBA/2</i>	Самцы	82	86	125	14,9
	Самки	101	85	118	49,0
<i>СВА</i>	Самцы	107	111	125	29,4
	Самки	91	94	116	54,5
<i>C57BL/10</i>	Самцы	118	124	165	33,3
	Самки	99	104	141	31,4
<i>СЗН</i>	Самцы	113	112	157	27,6
	Самки	70	73	111	66,7
<i>СЗН.К</i>	Самцы	104	115	131	44,0

лю может быть малое соответствие нормальному старению человека. Однако они могут быть заменимыми при исследовании тех или иных специфических механизмов старения [3, 31].

Спектр ассоциированной с возрастом патологии, прежде всего новообразований, у крыс существенно шире, чем у мышей [1, 32, 101]. У большинства линий крыс преобладают доброкачественные опухоли эндокринных желез, молочной железы (у самок), лимфомы и лейкозы. Однако хорошо известны линии крыс с исключительно высокой частотой опухолей одной локализации. Примерами могут служить самки крысы линии *BDII*, у которых в 100 % случаев развиваются аденокарциномы матки, или самцы *Lobund-Wistar*, с такой же частотой подверженные раку предстательной железы [1, 32].

В США наиболее часто в геронтологических исследованиях используют долгоживущих мышей *C57BL/6J* и крыс *Fischer 344*. Мы полагаем, что многолетний опыт использования той или иной линии мышей и крыс в лаборатории, проводящей такие испытания, может и должен стать определяющим при выборе линии мышей или крыс для тестирования геропротекторов. При возможности мы используем в своих исследованиях все три типа животных — инбредных, аутбредных и генетически модифицированных. Например, геропротекторный эффект мелатонина был нами изучен на инбредных *СВА*, аутбредных *SHR*, трансгенных *HER/2-пеи*, мутантных *SAMP-1* и контрольных к ним *SAMR-1* мышцах, крысах ЛЮ, а также плодовых мушках разных линий и нематодах [3, 23].

В ряде работ обсуждается роль таких важных факторов для корректного проведения экспериментов, как условия содержания животных и диета [32, 74, 79, 96, 101]. Важно заметить, что содержание животных в условиях стерильного вивария (*SPF*, *specific pathogenic free*) не оказывает существенно влияния на продолжительность их жизни [91].

Многие параметры, такие как условия содержания, диета, состояние здоровья, генетическая характеристика лабораторных животных, могут контролироваться и изменяться в зависимости от задач исследования. Для получения максимально полной, насколько это возможно, информации в таких экспериментах важное значение имеет выбор оцениваемых параметров, а также выбор линии животных, пола, размер выборки (число животных в контрольной и подопытных группах) [33, 75, 79]. Полагают, что при выборе модели необходимо исходить из принципов экономической реалистичности выполнения проекта, технической выполни-

мости и воспроизводимости его результатов [49]. При этом, планируя исследование, экспериментатор должен ответить на три основных вопроса: 1) достаточно ли разумна стоимость исследования при использовании числа животных, необходимого для получения статистически надежных результатов; 2) воспроизводимы ли условия проведения эксперимента, включая генетическую принадлежность и характеристику животных; 3) отвечают ли характеристики экспериментальной модели тем задачам, которые поставлены перед исследователем?

Для минимизации возможных артефактов и ошибок, которые могут быть следствием экспериментов по фармакологическому влиянию на продолжительность жизни, рекомендуется соблюдать несколько правил проведения таких исследований [69]:

- необходимо оценивать влияние препарата не только на параметры старения, но и смертность животных;
- предполагаемое вещество должно оказывать дозозависимый эффект, который не обязательно будет линейным;
- модельные животные не должны иметь пониженный метаболизм;
- тестируемый препарат не должен существенно тормозить фертильность;
- модельные животные не должны иметь нарушения в нервной системе;
- эффект препарата не должен сильно зависеть от линейных (генетических) особенностей используемых животных.

Маркеры биологического возраста

Значение проблемы биомаркеров старения состоит в их использовании для выявления и оценки эффективности факторов, способствующих преждевременному и (или) ускоренному старению.

Для определения биологического возраста индивидуума обычно используют батарею тестов, определяющих функциональное состояние организма и его систем [12, 57, 67, 72]. Существует большое количество (более 40) таких методик, что свидетельствует об отсутствии единого подхода к измерению биологического возраста. Вместе с тем, термин «биомаркер старения» прочно вошел в геронтологическую литературу. Под ним понимают «биологический параметр организма, который либо один, либо в сочетании с другими параметрами в отсутствие болезни лучше предсказывает функциональную способность в некотором отдаленном возрасте, чем хронологический возраст» [51].

В ряде работ обсуждаются критерии, которым должны удовлетворять биомаркеры старения. Так, по мнению R. Arking [48], биомаркеры должны:

- 1) изменяться с возрастом со скоростью, которая отражает скорость старения;
- 2) отражать физиологический возраст;
- 3) позволять постоянно контролировать изменения какого-либо важного для организма процесса;
- 4) быть существенными для поддержания здоровья;
- 5) служить предиктором продолжительности жизни и/или
- 6) служить ретроспективным маркером старения;
- 7) быть легко воспроизводимыми;
- 8) отражать изменения, происходящие за относительно короткое время;
- 9) быть измеримыми у разных видов животных;
- 10) быть не летальными и, желательно, не инвазивными и минимально травматичными.

Далее приведены критерии, которым должны удовлетворять биомаркеры старения, с точки зрения специалистов Геронтологического исследова-

тельского центра Национального института старения США в Балтиморе [67].

Критерии выбора биомаркеров старения [67, с изменениями]

Не летальны
Легко воспроизводимы
Легко выявляют существенные нарушения в течение относительно короткого времени
Существенны для эффективного поддержания здоровья и предупреждения болезней
Существенная стабильность индивидуальных различий
Отражают измеряемый параметр, который может быть предсказан в более позднем возрасте
Существенные лонгитудинальные возрастные изменения соответствуют данным, полученным в поперечных исследованиях
Отражают некоторые фундаментальные биологические процессы старения и обмена
Должны быть высоко воспроизводимы при сравнении животных разных видов
Скорость возрастных изменений пропорциональна различиям в продолжительности жизни среди разных видов

Очевидно, что достаточно трудно выбрать показатель в качестве биомаркера старения, который

Таблица 3

Показатели, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров старения [77, с изменениями]

Функция	Параметр	Организм
Поведение	Негативный геотаксис	Мухи
	Исследовательская активность	Нематоды, мухи, грызуны
	Двигательная активность	Нематоды, мухи, грызуны
	Полет	Мухи
	Движения тела	Нематоды, мухи, грызуны
	Фарингеальный насос	Нематоды
Обучение	Избегание запаха	Нематоды, мухи, грызуны
	Дискриминация	Нематоды, мухи, грызуны
	Хоботковый ответ	Мухи
Чувствительность	Механорецепция	Нематоды, мухи, грызуны
	Хемотаксис	Нематоды, мухи, грызуны
	Изотермальное отслеживание	Нематоды, мухи, грызуны
Устойчивость к стрессу	–	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны
Фертильность	–	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны
Гистологические тесты	Исследование мышц	Нематоды, мухи, грызуны
	Анализ нервной системы	Нематоды, мухи, грызуны
Молекулярные переменные	Накопление пигмента	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны
	Обмен белка	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны
	Активность ферментов	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны
Экспрессия генов	Кандидатные гены	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны
	Исследование всего генома	Дрожжи, нематоды, мухи, грызуны

удовлетворял бы всем этим критериям [72]. В табл. 3 перечислен ряд переменных показателей, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров старения при изучении влияния на него разных генетических манипуляций у лабораторных организмов (дрожжей, червей, плодовых мух и грызунов).

Протоколы испытаний геропротекторов на животных

В нашей лаборатории был разработан и в течение многих лет успешно используется стандартный протокол испытаний потенциальных геропротекторов, который включен в изданное в 2007 г. в США руководство «Биология старения: методы и протоколы» [43].

Животные. Выбор линии. Рекомендуется использовать две или более линии мышей одновременно, комбинируя аутбредные и инбредные линии. Дополнительно могут быть использованы генетически модифицированные животные. Линии мышей должны быть хорошо охарактеризованы генетически, должны быть известны их продолжительность жизни и спонтанная патология, сходная с таковой у человека. Предпочтение должно отдаваться долгоживущим линиям мышей, без доминирования какого-либо одного заболевания. Наиболее важным аспектом является длительный опыт работы с используемыми линиями в лаборатории, где такое исследование будет выполняться. Желательно использовать оба пола мышей. При ограниченных возможностях предпочтение отдается самкам, поскольку самцы при групповом содержании агрессивны и убивают более слабых особей.

Условия содержания. Животных необходимо содержать при стандартной температуре и влажности. Требования к виварию и общие требования ухода подробно описаны в литературе [82, 99]. Самок мышей содержат в одинаковом количестве на клетку (по 5, 7 или 10 голов) в контрольной и подопытных группах. Самцов из-за агрессивности держат по одному в клетке. Стандартный размер клетки для группового содержания мышей 30×21×14 см. В комнате нужно поддерживать стандартный режим освещения (12 ч свет : 12 ч темнота), постоянную температуру 20–24 °С и обеспечивать достаточный воздухообмен. Животные должны получать фильтрованную водопроводную воду и стандартный брикетированный корм без ограничения (если не предусматриваются специальные условия кормления или диета).

Возраст в начале воздействия. При долгосрочных экспериментах введения препаратов в подопытных группах следует начинать в возрасте 2–4 мес, вскоре после полового созревания, которое у самок оценивается по открытию влагалища. В специальных случаях можно начинать введения в более позднем возрасте, скажем, в 12 и/или 20 мес.

Рандомизация животных. Перед началом введения препаратов (за 1–2 нед) животных случайным образом разделяют на контрольную и подопытные группы. Количество животных должно быть достаточным для дальнейшей статистической обработки результатов (обычно 50 особей в каждой группе).

Способ введения препарата, доза и режим введения. Оптимальным является введение препарата с питьевой водой или добавление его в корм. При плохой растворимости вещества в воде допустимо его предварительное растворение в небольшом количестве этанола с последующим разведением в воде до нужной концентрации. Для более точной дозировки можно использовать введение водных растворов или суспензий препаратов в 1% растворе крахмала через желудочный зонд 3–5 раз в неделю.

При необходимости парентерального введения испытуемого препарата его растворы в соответствующей концентрации вводятся один раз в неделю подкожно в объеме 0,1 мл. Внутривенное введение является более стрессовым и увеличивает риск инфицирования.

Желательно введение испытуемого вещества в двух–трех дозах, включая дозу, в которой предполагается его введение человеку. Максимальная доза не должна превышать максимально переносимую (MTD). Рекомендуется постоянное введение препарата до естественной гибели животных, однако допустимо курсовое введение препаратов, особенно гормонов. В таких случаях препарат вводят 5 дней подряд, а затем делают 3-недельный перерыв во введениях [88].

Наблюдение за животными. В течение всего эксперимента должно быть обеспечено ежедневное наблюдение за животными, регулярная регистрация количества выпитой жидкости и потребленного корма (ежемесячно), измерение температуры тела, физической силы и активности, исследование эстральной функции (у самок). Регистрируют состояние вибрисс (усов), кожных покровов (облысение, поседение волос, эрозии и изъязвления кожи и т. д.), наличие лордокифоза. За животными на-

блюдают до их естественной смерти. Допустимо умерщвление животных, находящихся в состоянии крайней слабости. В протоколе регистрируют дату гибели и возраст животного (в днях) на момент его гибели. Появление опухолей молочных желез и других видимых новообразований у мышей, а также патологических изменений регистрируют в протоколе (отмечается дата и срок обнаружения в сутках). Обнаруженную опухоль еженедельно измеряют штангенциркулем по максимальному диаметру и отмечают максимальный диаметр (в см) на специальной схеме. Наличие лордоза документируется рентгенографией, которая также полезна для оценки состояния костной ткани (наличие остеопороза).

Потребление корма. Этот параметр измеряют ежемесячно на протяжении всего эксперимента. 10 г корма на одну мышь помещают в контейнер для корма в клетке и через 24 ч взвешивают количество несъеденного корма, оставшегося в контейнере или на дне клетки. Параметр измеряют в г/мышь в сут.

Потребление воды также измеряют ежемесячно. В емкость наливают питьевую воду или раствор с тестируемым веществом в количестве 10 мл на мышь и измеряют потребление через 24 ч. Параметр измеряют в мл/мышь в сут.

Температура тела измеряют один раз в 3 мес. Мышь фиксируется в обычном положении, сидящей на прутьях клетки с поднятым хвостом. Смоченный глицерином электрод электронного термометра вводят в прямую кишку на глубину 1 см. Первоначально температура может снижаться из-за стресса и ангиоспазма. Поэтому необходимо некоторое время выждать, пока мышь не успокоится, и температура стабилизируется.

Эстральная функция. Каждые 3 мес в течение трех последовательных недель ежедневно исследуют влагалищные мазки для идентификации стадий эстрального цикла [80]. Оценивают следующие параметры: длительность каждого эстрального цикла (от 1-го дня эструса до 1-го дня эструса следующего цикла); соотношение фаз эстрального цикла, частота коротких, средних и длинных эстральных циклов (<5 дней, 5–7 дней, >7 дней); частота животных с регулярными и нерегулярными циклами; частота персистирующего эструса (%).

Двигательная активность животных. Каждые 3 мес исследуется двигательная активность мышей в тесте «открытое поле». Для этого животных каждой экспериментальной группы по одному помещают в пластиковую камеру размером

30×21×9 см, дно которой расчерчено на квадраты 5×5 см: 5 квадратов по длине и 4 — по ширине. В течение 10 мин наблюдают за перемещениями мыши в «открытом поле» и фиксируют следующие параметры поведения: 1) количество пересеченных квадратов поля (квадрат считается пересеченным, если животное переступило его границу хотя бы двумя лапами); 2) число вертикальных стоек (животное поднимается на задние лапы); 3) длительность реакции груминга морды, тела и гениталий.

Для исключения ориентировочной реакции, связанной с запахами, после каждого животного пол камеры протирают влажной тряпкой. Тестирование проводят в возрасте 6, 9, 12 и 18 мес в дневное время в интервале с 10 до 17 ч.

Тест «челночный лабиринт» используют для оценки нервно-психических процессов, прежде всего когнитивных [18]. В конце лабиринта, имеющего форму куба (1 м³) и состоящего из 6 отсеков, соединенных проходами шириной 10 см, находится пищевое подкрепление (кусочки сыра массой 100 мг). За сутки до проведения эксперимента животных подвергают сеансу ознакомления с устройством лабиринта (исследовательская стадия эксперимента). Им позволяют свободно перемещаться по лабиринту и изучать его без какого-либо подкрепления или наказания, при этом время нахождения в лабиринте не ограничивается. Во время второй стадии тестирования голодное животное запускают в лабиринт и наблюдают за его поведением. После каждого успешного прохождения лабиринта экспериментальные животные получают пищевое подкрепление. Время проведения эксперимента 5 мин. Во время эксперимента регистрируют: количество пройденных отсеков; время прохождения лабиринта; количество крыс, достигших конца лабиринта, а также количество вертикальных стоек, груминг, количество уринаций и дефекаций, время фризинга.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Методика основана на навыке предпочтения грызунами темных нор, естественного страха нахождения на открытых площадках и падения с высоты. Наиболее распространенным вариантом приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) является установка, которая состоит из крестообразно расходящихся от центральной площадки под прямым углом четырех рукавов: два противоположных, открытых (без стенок) и два закрытых, темных. Центральная площадка и пол открытых рукавов, как правило, прозрачны, тогда как пол и стенки закрытых рукавов покрашены в темный

цвет. Эксперименты проводят как при обычном освещении, так и при дополнительном освещении открытых рукавов. Наиболее часто используемые размеры ПКЛ для крыс: 10×10×50 см, центральная площадка 10×10×10 см, ПКЛ приподнят на 80–100 см; для мышей рукава составляют 5×5×20 см, центральная площадка — 5×5×5 см, ПКЛ приподнят на 25–30 см. Животное помещают в ПКЛ на центральную площадку, головой к открытому рукаву, и в течение определенного интервала времени (5 мин) регистрируют время пребывания животных в открытых, закрытых рукавах, а также на центральной площадке, количество заходов в открытые и темные рукава, латентный период захода в открытый рукав. Контрольные интактные животные предпочитают большую часть времени проводить в закрытых, темных рукавах. Анксиолитический эффект препарата оценивают по увеличению числа заходов в светлые рукава и времени нахождения в них, без увеличения общего числа заходов. Время нахождения на центральной площадке позволяет оценить показатель времени принятия решения. По общему числу заходов в открытые и закрытые рукава и вертикальным стойкам можно оценить общую двигательную активность. Эмоциональность оценивают по числу мочеиспусканий и болюсов.

Физическая сила и утомляемость. Исследования проводят также каждые 3 мес в дневные часы. Мышей подвешивают на струну, натянутую на высоте 75–80 см, так, чтобы они цеплялись передними лапами и висели на веревке до момента утомления и падения. Регистрируют время, через которое мыши перестают удерживаться на струне и падают. Через 20 мин мышей подвешивают второй раз и снова измеряют время до падения. Время выражают в секундах и находят среднее значение из двух показателей, высчитывают сумму, а также разницу между временем первого и второго падения, что может служить показателем восстановления сил. Кроме того, учитывая вес подвешиваемых животных, вычисляют отношение массы мыши ко времени ее первого и второго висения и времени висения к массе животного. Из этих показателей также находят среднее значение, сумму и разницу. В группах подсчитывают те же показатели, но уже по классам в зависимости от веса животных.

Биохимические и гормональные исследования. При необходимости углубленного изучения испытываемого препарата часть животных в контрольной и подопытных группах в возрасте 2–4, 12 и 18–24 мес (в зависимости от линии) после

ночного голодания умерщвляют на гильотине, образцы крови или сыворотки крови собирают и сохраняют при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до последующего исследования. Кроме того, образцы тканей и органов для последующего исследования замораживают жидким азотом до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ и сохраняют при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. В сыворотке крови, в зависимости от задач исследования, определяют уровни глюкозы, холестерина и α -холестерина, триглицеридов, β -липопротеидов, инсулина, лептина, IGF-1, кортикостерона, тироксина (Т4), трийодтиронина (Т3), пролактина, эстрадиола, мелатонина, используя стандартные коммерческие наборы.

При изучении свободнорадикальных процессов обычно исследуют общую антиокислительную активность и люминоиндуцированную хемолюминесценцию крови, содержание в сыворотке крови и тканях (головном мозге, печени, почках) диеновых конъюгатов, шиффовых оснований, малонового диальдегида, 8-ОН-дезоксигуанозина, СО-производных аминокислот, активность Cu,Zn-супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, N-синтазы [9].

Определение пролиферативного потенциала фибробластов мышей, получавших геропротекторы. Подкожные фибробласты изолируют из хвостов контрольных и подопытных мышей. Кусочек хвоста длиной 1,5 см помещают в чашку Петри с питательной средой DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco, США), содержащую 200 ед пенициллина/мл, 200 мкг стрептомицина/мл и 50 мкг фунгизона/мл. Ткань измельчают и помещают в чашку Петри со средой DMEM, 16 % сывороткой коровьего эмбриона, 0,3 мг глутамин и теми же антибиотиками, но в количестве вдвое меньшем, чем указано выше. После инкубации в течение 3–5 дней фибробласты начинают выходить из кусочков ткани. Вышедшие клетки удаляют с подложки трипсином и ЭДТА, чтобы затем получить монослой фибробластов. Индукцию апоптоза вызывают добавкой H_2O_2 к фибробластам. Активность β -галактозидазы, рассматриваемой как маркер клеточного (репликативного) старения (cell senescence), выявляют окраской посредством раствора X-Gal (1 мг/мл, pH=6,0) в течение ночи при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ [68]. Содержание фосфорилированного гистона γ -H2AX определяют при помощи Вестерн-блоттинга с моноклональными антителами к фосфорилированной форме этого белка и проявляют, используя кроличьи антитела к мышинному IgG, конъюгированные с флюорофором Texas Red.

Анализ длины теломер. Для исследования длины теломер используют метод анализа фрагментов рестрикции теломер (теломерный Саузерн-блот) или усовершенствованный *FISH*-метод (*Q-FISH analysis*) [55].

Хромосомные aberrации. Весьма информативными могут быть исследования хромосомных aberrаций и мутаций в соматических клетках грызунов. Среди таких тестов используют анна-телофазный тест, позволяющий быстро регистрировать хромосомные aberrации (одиночные и двойные мосты и фрагменты) на стадиях анафазы и ранней телофазы в клетках костного мозга [20]. Тест на индукцию аномалий головок спермиев у мышей позволяет оценить мутагенез в половых клетках самцов [26]. Более надежными и информативными являются *FISH*-метод и определение соматических мутаций в локусах репортерного гена *lacZ* [61].

Патоморфологическое исследование. За животными наблюдают до их естественной гибели.

Всех павших или умерщвленных в состоянии крайней слабости животных вскрывают. На аутопсии осматривают кожу и все внутренние органы, регистрируя признаки воспалительных и иных патологических процессов. При этом выявленные новообразования классифицируют согласно рекомендациям Международного агентства по изучению рака (МАИР) как «фатальные» (то есть послужившие непосредственной причиной гибели животных) или как «случайные» (когда животное погибло от других причин) [62]. Все опухоли, а также ткани и органы, подозрительные на наличие опухолевого роста, вырезают и фиксируют в 10 % нейтральном формалине. После рутинной гистологической обработки ткани заливают в парафин. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм окрашивают гематоксилином и эозином и изучают микроскопически. При диагностике опухолей используют гистологическую классификацию опухолей, предложенную МАИР [97].

Таблица 4

Фармакологические препараты с геропротекторной активностью, изученные в лаборатории канцерогенеза и старения

Препарат	Состав, химическое название	Животные (вид, линия)	Номер ссылки
Аквален	Волокнистый углеродный сорбент	Мыши <i>SHR</i>	[46]
Буформин	<i>N</i> -бутилбигуанид	Крысы	[2]
Вилон	Дипептид (<i>Lys-Glu</i>)	Крысы, мыши <i>CBA, HER-2/neu</i>	[39]
Дельтаран	Пептид дельта-сна (<i>Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu</i>)	Мыши <i>SHR, HER-2/neu</i>	[25]
Диабенол	9-диэтиламиноэтил-2,3-дигидро-имидазо-[1,2- α] бензимидазол дигидрохлорид	Мыши <i>HER-2/neu, NMRI</i>	[83]
Дифенин	Дифенилгидантоин	Крысы; мыши <i>C3H/Sn</i>	[2, 58]
<i>L</i> -ДОФА	<i>L</i> -диоксифенилаланин	Мыши <i>C3H/Sn</i>	[58]
Мелатонин	<i>N</i> -ацетил-5-метокситриптамин	Крысы; мыши <i>CBA, HER-2/neu, SHR, 129/Sv, SAMP-1, SAMR-1</i>	[11, 35, 36, 44, 47]
Метформин	<i>N,N</i> -диметилбигуанид	Мыши <i>HER-2/neu, SHR, 129/Sv</i>	[37, 38]
Нейронол (аданол)	Янтарная кислота (36,5 %); пирацетам (25,5 %); рибоксин (25,5 %); никотинамид (7,3 %); рибофлавина мононуклеотид (2,6 %); пиридоксингидрохлорид (2,6 %)	Мыши <i>SAMP-1</i>	[24]
<i>SkQ-1</i>	10-(6'-пластохинонил) децилтрифенил-фосфоний	Мыши <i>SHR, 129/Sv</i>	[7]
Тималин	Полипептидный препарат тимуса	Мыши <i>C3H/Sn</i>	[40, 42]
Тимоген	<i>Glu-Trp</i>	Крысы; мыши <i>CBA, HER-2/neu</i>	[41]
Фенформин	1-фенилэтилбигуанид	Крысы, мыши <i>C3H/Sn</i>	[32, 58]
Эпигид	2-этил-6-метил-3-оксипиридин	Мыши <i>C3H/Sn</i>	[8]
Эпиталамин	Полипептидный препарат шишковидной железы	Крысы; мыши, <i>C3H/Sn, SHR</i>	[6, 40, 42, 59]
Эпиталон	Тетрапептид <i>Ala-Glu-Asp-Gly</i>	Крысы; мыши <i>CBA, HER-2/neu, SHR, 129/Sv, SAMP-1, SAMR-1</i>	[3, 10, 39]
Янтарная кислота	Янтарная кислота (бутандионовая кислота, этан-1,2-дикарбоновая кислота) $HOOC-CH_2-CH_2-COOH$	Мыши <i>C3H/Sn</i>	[5]

Параметры продолжительности жизни. При оценке динамики выживаемости рассчитывают среднюю продолжительность жизни всех животных, а также 10 % максимально проживших мышей, медиану и максимальную продолжительность жизни [17]. При расчете кинетических параметров популяционного старения используют модель Гомпертца для функции выживания:

$$S(x) = \exp\left\{-\frac{\beta}{\alpha} [\exp(\alpha x) - 1]\right\},$$

где параметры α и β связаны с популяционной скоростью старения и начальной силой смертно-

сти, соответственно. Параметр α часто характеризуется также величиной времени удвоения силы смертности (mortality rate doubling time, *MRDT*), рассчитываемой как $\ln(2)/\alpha$. Для анализа выживаемости используют метод Кокса [56]. Для каждой группы рассчитывают непараметрические оценки Каплана–Мейера условных функций дожития [70].

Статистика. Статистическую обработку результатов опытов проводят методами вариационной статистики с использованием пакета статистических программ STATGRAPH. Рассчитывают параме-

Таблица 5

Продолжительность жизни и некоторые биомаркеры старения у самок мышей разных линий

Параметр	Линия мышей						
	<i>CBA</i>	129/ <i>Sv</i>	<i>NMRI</i>	<i>SHR</i>	<i>SAMP-1</i>	<i>SAMR-1</i>	<i>HER-2/neu</i>
Количество мышей	50	103	50	95	40	42	60
<i>Параметры продолжительности жизни</i>							
СПЖ, сут	685±9,24	678±14,2	346±11,9	457±20,74*	514±21,8*	557±18,55*	294±5,54*
СПЖ последних 10 % мышей, сут	736±1,28	919±11,6	480±9,2	747±5,37	725±11,36	700±13,27*	386±6,69*
Максимальная ПЖ	740	983	511	772	766	749	431
Популяционная скорость старения, α , сут ⁻³	19,0 (16,6; 20,3)	7,71 (7,70; 7,82)	14,00 (13,9; 15,7)	5,04* (4,14; 6,07)	8,1* (6,60; 10,5)	11,2* (8,76; 14,8)	19,1 (16,7; 23,8)
<i>MRDT</i> , сут	37 (34; 42)	90 (89; 91)	50 (44; 50)	138* (114; 167)	86* (66; 107)	62* (47; 79)	3 (29; 41)
<i>Масса тела мышей, г</i>							
3 мес	21,4±0,25	23,9±0,24	28,4±0,22	26,5±0,3*	24,8±0,27*	25,0±0,21*	23,9±0,28*
12 мес	29,7±0,78	29,9±0,43	33,4±0,51	35,7±0,94*	32,3±0,46*	32,5±0,53*	25,0±0,45*
Прибавка веса, %	38,8	25,1	17,6	34,7	30,6	30,0	4,6
<i>Потребление корма, г/мышь в сут</i>							
3 мес	2,3±0,19	3,5±0,17	4,9±0,40	4,3±0,23*	4,80±0,0*	3,75±0,12*	5,1±0,28*
12 мес	3,1±0,12	3,5±0,17	5,8±0,41	3,8±0,42	4,20±0,0*	4,05±0,16*	5,0±0,35*
<i>Продолжительность эстрального цикла, сут</i>							
2–3 мес	4,80±0,30	6,7±0,34	6,7±0,28	5,96±0,21*	4,57±0,33	3,88±0,19*	5,5±0,31
12–14 мес	4,86±0,25	7,3±1,03	8,0±1,34	5,32±0,30	5,75±0,34*	4,66±0,20	6,3±0,35*
<i>Количество мышей с регулярными эстральными циклами, %</i>							
3 мес	100	82	94	93	80	100	83
12 мес	100	50	42*	87	100	95	50*
18 мес	84	70	–	88	83	100	–
<i>Температура тела (ректальная), °C</i>							
12 мес	37,6±0,09	38,0±0,16	37,9±0,16	37,67±0,09	38,8±0,17*	37,96±0,26	38,88±0,17*
<i>Частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга у самцов, %</i>							
3 мес	3,1±0,15	15,4±0,02	Не определяли	2,9±0,20	3,5±0,12	8,1±0,10*	5,3±0,14*
12 мес	8,9±0,24	16,7±0,12		8,5±0,14	10,9±0,09*	19,1±0,16*	8,5±0,12
Номер ссылки	[47]	[22, 81]	[83]	[35]	[24]	[24]	[36, 37]

* Различие с соответствующим показателем у мышей *CBA* достоверно, $p < 0,05$

Примечание. СПЖ — средняя продолжительность жизни

тры уравнения регрессии для кривых возрастной динамики веса тела. Достоверность различий оценивают по критериям t Стьюдента, непараметрическому критерию Вилкоксона—Манна—Уитни, точным методом Фишера или χ^2 [73, 94]. При оценке различий в частоте новообразований используют рекомендованный МАИР метод комбинированных таблиц контингентности, рассчитанных раздельно для фатальных и случайных опухолей с помощью программы CARTEST [62]. При анализе выживаемости и риска развития опухолей используют логранк-тест [56]. Примеры применения

разных современных подходов при статистической обработке результатов долгосрочных экспериментов приведены в [13].

Описанная методика тестирования была использована нами при изучении геропротекторной активности ряда фармакологических препаратов и веществ (табл. 4).

Некоторые характеристики мышей, использованных в этих опытах, приведены в табл. 5 и 6.

В 2003 г. Национальным институтом старения США была начата Программа тестирования средств воздействия на старение (Interventions

Таблица 6

Сведения о спонтанных опухолях у самок мышей разных линий

Параметр	Линия мышей						
	<i>CBA</i>	129/ <i>Sv</i>	<i>NMRI</i>	<i>SHR</i>	<i>SAMP-1</i>	<i>SAMR-1</i>	<i>HER-2/neu</i>
Количество мышей	50	103	50	95	40	42	60
Число мышей с опухолями, %	15 (30 %)	79 (77 %)	25 (50 %)	39 (41 %)	27 (68 %)*	31 (74 %)*	46 (77 %)*
Число мышей с фатальными опухолями, %	3 (6 %)	58 (47 %)	25 (50 %)	35 (37 %)*	27 (68 %)*	31 (74 %)*	46 (77 %)*
Общее количество опухолей	20	120	30	45	29	33	181
Аденокарцинома молочной железы	5 (3)**	3	21 (42)	25 (23)	—	—	181 (46)*
Легкие							
аденома	11 (10)	8	—	1	—	—	—
аденокарцинома	—	4	—	1	—	—	—
Лейкоз/лимфома	—	5	4	13	27	31	—
Матка							
полип	—	8	—	3	—	—	—
гемангиома	—	19	—	1	—	—	—
аденокарцинома	—	5	—	—	—	—	—
саркома	—	37	—	—	—	—	—
Папиллома кожи	—	—	—	1	—	—	—
Гемангиома сосудов	3	—	—	—	—	—	—
Злокачественная фиброзная гистиоцитома	—	—	—	—	2	3	—
Ангиосаркома	—	1	—	—	—	—	—
Гемангиоэндотелиома	—	1	—	—	—	—	—
Яичник							
аденокарцинома	—	1	—	—	—	—	—
ГТКО	—	12	—	—	—	—	—
гемангиома	—	5	—	—	—	—	—
цистаденома	—	2	—	—	—	—	—
Печень: гемангиома	—	3	—	—	—	—	—
Номер ссылки	[47]	[22, 81]	[83]	[35]	[24]	[24]	[36, 37]

* Различие с показателем для мышей *CBA* достоверно, $p < 0,05$; ** в скобках — число животных-носителей опухолей этой локализации

Примечание. ГТКО — гранулезотеклаклеточная опухоль яичника

Testing Program, *ITP*), предполагающая использование мышей для тестирования веществ с потенциальной способностью увеличивать продолжительность жизни и замедлять развитие болезней и дисфункций у мышей [76, 79, 102]. Такие воздействия включают фармакологические средства, нутрицевтики, пищевые продукты, диеты, пищевые добавки, экстракты растений, гормоны, пептиды, аминокислоты, хелатные агенты, антиоксиданты и др. Определен и пополняется список веществ, эффективность которых предполагается оценить в первую очередь (см. вебсайт: <http://www.nia.nih.gov/ResearchInformation/ScientificResources/InterventionsTestingProgram>). По этой программе уже были изучены аспирин, нордигидрогуаретиновая кислота, нитрофтородипрофен и 4-ОНРВН [79]. Приоритет отдается воздействиям, которые легко доступны, разумны по стоимости, могут вводиться с кормом (предпочтительно) или водой. Вмешательства, которые требуют интенсивных форм введения, таких как ежедневные инъекции или введение с зондом, не будут исследоваться в рамках *ITP*. Среди препаратов, испытания которых еще продолжаются, — ресвератрол, куркумин, рапамицин, экстракт зеленого чая, *N*-ацетилцистеин, симвастатин и др.

Протокол испытаний по программе *ITP* включает две фазы. В течение первой фазы изучают способность вещества увеличивать продолжительность жизни. При этом дополнительно оценивают небольшое число параметров, таких как двигательная активность животных в молодом и старческом возрасте, уровень метаболических гормонов и субпопуляции *T*-лимфоцитов. Во второй фазе испытаний препараты, показавшие обнадеживающие результаты, подвергают более интенсивному исследованию с целью выявления таких, которые могут быть испытаны в дальнейшем на людях. В этой фазе исследуют поведенческие реакции (когнитивные и поведенческие тесты), измеряют окислительный стресс, проводят патоморфологическое исследование павших животных. Все условия содержания, диета и протокол тестирования унифицированы и стандартизированы.

Весьма перспективным при оценке эффективности геропротекторов может оказаться исследование современных биомаркеров, основанное на микрочиповой технологии, то есть изучение экспрессии генов, имеющих отношение к продолжительности жизни и долголетию [30, 92, 103].

Клинические испытания препаратов, увеличивающих продолжительность жизни

На первый взгляд, клинические испытания и утверждение показаний к препаратам, увеличивающим продолжительность жизни человека, является задачей, заведомо обреченной на неудачу, если вообще выполнимой [50, 100]. Поскольку такие лекарства должны назначаться к приему вполне здоровым людям и в течение длительного срока, иногда на протяжении десятилетий, то очевидно, что к их безопасности должны предъявляться исключительно высокие требования. Прежде всего, это касается побочных эффектов, вероятность развития которых должна практически быть нулевой. Если при таких испытаниях установлено снижение смертности, то будут необходимы длительные многолетние, даже в течение десятилетий, клинические исследования. Все это создает дополнительные трудности, поскольку в течение столь больших периодов времени может измениться как законодательство, касающееся патентных прав, так и регуляторные требования к самим испытаниям [64]. Важным аспектом проблемы являются этические требования к их проведению и вопросы стандартизации. Следует признать, что в настоящее время отсутствуют нормативные документы, регламентирующие проведение клинических испытаний препаратов, предназначенных для увеличения продолжительности жизни человека [103], и пока Управление по продовольствию и лекарствам США (US Food and Drug Administration) не утверждает такие средства [100]. Препараты, замедляющие старение, могут быть введены в профилактическую медицину через испытания на людях при специфических болезнях или состояниях в зависимости от того, противостоят ли эти препараты прогрессии болезни в испытаниях, длящихся относительно короткое время [50]. Попытки оценить геропротекторное действие фармакологических препаратов или иных воздействий у людей весьма немногочисленны [14].

В исследовании, выполненном L. Fontana и соавт. [60], оценивалась эффективность ограничения энергетической ценности питания у людей, соблюдавших такую диету в среднем в течение 6 лет, по сравнению с обычной американской диетой у подобранных по возрасту и другим параметрам здоровых людей. Средний возраст 18 испытуемых был 50 ± 10 лет (от 35 до 82 лет), все они не курили, не имели хронических заболеваний и не принимали гиполлипидемических, антигипертензивных или других лекарств. Испытуемые потребля-

ли ежедневно от 1112 до 1958 кКал. В их рацион входили фрукты, овощи, орехи, злаки, протеины и мясо. 26 % калорий они получали из белков, 28 % — из жиров и 46 % — из углеводов. Никто из них не употреблял сладкие напитки, закуски и десерт. Лица, вошедшие в контрольную группу (18 человек), потребляли 1976—3537 кКал в день и не имели никаких ограничений в сладком. В результате, было установлено, что у лиц, придерживавшихся калорийно ограниченной диеты, была меньше масса тела, уровень общего холестерина, липопротеинов низкой плотности, триглицериды, глюкозы, инсулина, С-реактивного белка, тромбоцитарного фактора роста *AB* (*PDGF-AB*), систолического и диастолического артериального давления и выше уровень липопротеинов высокой плотности, чем в контрольной группе. Л. Хейфлик [28] сообщил об эксперименте, проводившемся в течение 30 лет в Испании, при котором одной группе клинически нормальных людей, живших в доме престарелых, давали пищу с ограниченным числом калорий, а люди в контрольной группе питались как обычно. Через три года в группе, потреблявшей ограниченное число калорий, болезни стали случаться в два раза реже и было зарегистрировано вполнину меньше смертей, чем в группе, которая питалась нормально.

Как показали исследования, выполненные в Институте геронтологии АМН Украины, удобными объектами для изучения эффективности герпротекторов являются люди с признаками ускоренного старения [14]. По данным О. В. Коркушко и соавт. [14], к такой категории могут быть отнесены лица, страдающие ишемической болезнью сердца. Авторы полагают, что ишемическая болезнь сердца является результатом ускоренного развития возрастных изменений сердечно-сосудистой системы и организма в целом. В монографии О. В. Коркушко и соавт. [14] приводится подробное описание методики оценки герпротекторного эффекта фармакологических препаратов на примере исследования пептидных препаратов тимуса и эпифиза. Эффективность препаратов оценивалась на основании динамики показателей субъективного состояния, функционального возраста физиологических систем организма, параметров физической и умственной работоспособности, иммунитета, костной ткани, обезвреживающей способности печени, липидного спектра крови, толерантности к углеводам, кислородного тканевого обмена, вегетативной регуляции и функционального состояния желез внутренней секреции. Важно отметить, что

исследование выполнялось в течение 6—12 лет и критерием эффективности изученных в клинике препаратов тимуса и эпифиза явилось снижение смертности пациентов, получавших герпротекторы, при сравнении с группой контрольных пациентов [14, 15].

Программы оценки эффекта потенциальных герпротекторов

В 2000 г. нами было обосновано предложение о создании международной программы (или проекта) по оценке эффективности и безопасности применения герпротекторов [33]. Ее деятельность могла бы осуществляться под наблюдением Программы старения ООН и Международной ассоциации геронтологии, успешное взаимодействие которых обеспечило разработку Программы по исследованиям старения в XXI в. [29]. За основу такого проекта можно было бы взять хорошо зарекомендовавшие себя программу оценки канцерогенного риска для человека химических веществ и программу оценки средств профилактики рака, осуществляемые Международным агентством по изучению рака, публикующим соответствующие серии монографий и руководств [65, 78, 98].

Задачей программы является подготовка международной рабочей группой экспертов критического обзора, системы и методологии оценки доказательств герпротекторной активности и эффективности препарата или иного средства. Эксперты также могли бы давать рекомендации о необходимости дополнительных исследований.

Публикации результатов работы такой группы экспертов будут содействовать национальным и международным учреждениям здравоохранения в планировании и реализации программ оздоровления и профилактики преждевременного старения и принятия решений о соотношении польза—риск таких программ. Рабочие группы экспертов призваны вырабатывать только научное заключение об имеющихся доказательствах герпротекторной эффективности и безопасности препаратов и средств и не должны давать рекомендации национальным или международным учреждениям и организациям по регулированию или законодательству применения тех или иных препаратов или средств, что является исключительной прерогативой этих учреждений или организаций.

Критерии, которые могут быть использованы для оценки, должны быть определены как степени доказанности эффективности тех или иных реко-

мендаций по применению геропротекторов. Таких степеней может быть четыре:

- имеются достаточные доказательства геропротекторной эффективности средства, подтвержденные в эпидемиологических многоцентровых рандомизированных исследованиях;
- эффективность средства подтверждена многочисленными экспериментальными исследованиями на животных разных видов, тогда как достаточные доказательства эффективности в эпидемиологических многоцентровых рандомизированных исследованиях отсутствуют или получены только в отдельных наблюдениях;
- об эффективности средств имеются единичные сообщения, степень надежности которых достаточно высока;
- имеются единичные неподтвержденные сообщения об эффективности средства.

Следует признать, что в настоящее время нет ни одного препарата, который можно было бы отнести к первой группе, то есть геропротекторная активность которого была бы безусловно доказана на людях. К средствам, которые можно было бы включить во вторую группу, по-видимому, следует отнести мелатонин, дегидроэпиандростерон, эпителин, тималин, антидиабетические бигуаниды, некоторые антиоксиданты. Имеются многочисленные подтверждения геропротекторного эффекта этих препаратов, полученные в экспериментах на животных, а также ряд публикаций об эффективности их применения в клинической практике [3, 14–16, 52, 104]. По-видимому, эти препараты являются наиболее вероятными кандидатами для проведения многоцентровых рандомизированных клинических испытаний.

Литература

1. Анисимов В. Н. Спонтанные опухоли у крыс разных линий // *Вопр. онкол.* 1976. № 8. С. 98–110.
2. Анисимов В. Н. Влияние буформина и дифенина на продолжительность жизни, эстральную функцию и частоту спонтанных опухолей у самок крыс // *Вопр. онкол.* 1980. Т. 26. № 6. С. 42–48.
3. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003.
4. Анисимов В. Н. Медицина антистарения: состояние и перспективы // *Вестн. эстет. мед.* 2008. Т. 7. № 1. С. 4–12.
5. Анисимов В. Н., Кондрашова М. Н. Влияние янтарной кислоты на частоту спонтанных опухолей и продолжительность жизни у мышей С3Н/Sn // *Докл. АН СССР.* 1979. Т. 248. С. 1242–1245.
6. Анисимов В. Н., Хавинсон В. Х. Влияние полипептидного препарата эпифиза на продолжительность жизни и частоту спонтанных опухолей у старых самок крыс // *Докл. АН СССР.* 1991. Т. 319. С. 250–253.
7. Анисимов В. Н., Бакеева Л. Е., Егормин П. А. и др. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. 5. SkQ1 увеличивает продолжительность жизни и предотвращает развитие признаков старения // *Биохимия.* 2008 (в печати).
8. Анисимов В. Н., Жуковская Н. В., Обухова Л. К. Антигонадотропное действие антиоксиданта эпигида (2-этил-6-метил-3-оксипиридина) у крыс // *Фармакол. и токсикол.* 1983. Т. 46. № 1. С. 128 (Деп. ВИНТИ 22.06.82 № 3223-82ДЕП).
9. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. реком. СПб.: Фолиант, 2000.
10. Виноградова И. А., Букалев А. В., Забежинский М. А. и др. Влияние пептида Ala-Glu-Asp-Gly на продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самок крыс при разных световых режимах // *Бюл. exper. биол.* 2007. Т. 144. С. 676–681.
11. 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 самок крыс // *Успехи геронтол.* 2007. Т. 20. № 4. С. 40–47.
12. Войтенко В. П., Токарь А. В., Полюхов А. М. Методика определения биологического возраста человека // *Геронтология и гериатрия.* 1984. Ежегодник. Биологический возраст. Наследственность и старение. Киев, 1984. С. 133–137.
13. *Геронтология in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г. И. Марчука, В. Н. Анисимова, А. А. Романохи, А. И. Яшина. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007.
14. Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Бутенко Г. М., Шатило В. Б. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002.
15. Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Шатило В. Б. Пинеальная железа: пути коррекции при старении. СПб.: Наука, 2006.
16. Мальцева Л. И., Гафарова Е. А., Гарипова Г. Х. Роль мелатонина в регуляции функции половых желез и возможности его применения в лечении симптомов патологического климакса // *Успехи геронтол.* 2007. Т. 20. № 4. С. 68–74.
17. Михальский А. И., Семенченко А. В., Анисимов В. Н., Яшин А. И. Старение и смертность грызунов // В кн.: *Геронтология in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г. И. Марчука, В. Н. Анисимова, А. А. Романохи, А. И. Яшина. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. С. 376–394.
18. Навакатилян М. А., Платонова Л. Л. Лабиринт для исследования двигательной активности белых крыс // *Санитария и гигиена.* 1988. № 2. С. 60–62.
19. Напалков Н. П. Рак и демографический переход // *Вопр. онкол.* 2004. Т. 50. № 2. С. 127–144.
20. Никольс У. Цитогенетические методы анализа мутагенности // В кн.: *Генетические последствия загрязнения окружающей среды.* М.: Наука, 1977.
21. Обухова Л. К. Химические геропротекторы и проблема увеличения продолжительности жизни // *Успехи химии.* 1975. Т. 44. С. 1914–1925.
22. Пискунова Т. С., Юрова М. Н., Семенченко А. В. и др. Особенности спонтанного канцерогенеза и продолжительности жизни у мышей-самок PARP-1^{-/-} // *Вопр. онкол.* 2007. Т. 53. № 1. С. 66–70.
23. Попович И. Г., Анисимов В. Н. Геропротекторы и канцерогенез // *Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии.* 2004. Т. 3. № 1. С. 61–69.
24. Попович И. Г., Забежинский М. А., Анисимов В. Н. и др. Влияние препарата нейронол на продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у мышей SAMP-1 с генетически ускоренным старением // *Бюл. exper. биол.* 2003. Т. 136. № 12. С. 674–677.

25. Попович И. Г., Войтенков Б. О., Анисимов В. Н. и др. Влияние пептида дельта-сна на продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у мышей // Докл. РАН. 2003. Т. 388. С. 701–703.
26. Розенфельд С. В., Того Е. Ф., Михеев В. М. и др. Возрастная динамика частоты хромосомных повреждений у самцов мышей разных линий // Бюл. экспер. биол. 2001. Т. 131. С. 568–570.
27. Фролькис В. В., Мурадян Х. К. Экспериментальные пути продления жизни. Л.: Наука, 1988.
28. Хейфлик Л. Как и почему мы стареем? М.: Вече, 1999.
29. Andrews G. R., Sidorenko A., Andrianova L. F. et al. The United Nation research agenda on aging for the 21st century // Успехи геронтол. 2001. Т. 7. С. 7–25.
30. Anisimov S. V. Application of DNA microarray technology to gerontological studies // Methods Molec. Biol. 2007. Vol. 371. P. 249–265.
31. Anisimov V. N. Aging and cancer in transgenic and mutant mice // Front. Biosci. 2003. Vol. 8. P. S883–S902.
32. Anisimov V. N. Carcinogenesis and Aging. Vol. 1. Boca Raton: CRC Press, 1987.
33. Anisimov V. N. Life span extension and cancer risk: myths and reality // Exp. Gerontol. 2001. Vol. 36. P. 1101–1136.
34. Anisimov V. N. Premature aging prevention: limitations and perspectives of pharmacological interventions // Curr. Drug Res. 2006. Vol. 7. P. 1485–1504.
35. Anisimov V. N., Alimova I. N., Baturin D. A. et al. Dose-dependent effect of melatonin on life span and spontaneous tumor incidence in female SHR mice // Exp. Geront. 2003. Vol. 38. P. 449–461.
36. Anisimov V. N., Alimova I. N., Baturin D. A. et al. The effect of melatonin treatment regimen on mammary adenocarcinoma development in HER-2/neu transgenic mice // Int. J. Cancer. 2003. Vol. 103. P. 300–305.
37. Anisimov V. N., Berstein L. M., Egormin P. A. et al. Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice // Exp. Geront. 2005. Vol. 40. P. 685–693.
38. Anisimov V. N., Berstein L. M., Egormin P. A. et al. Metformin slows down aging and extends life span of female SHR mice // Cell Cycle. 2008. Vol. 7. № 17. P. 1–5.
39. Anisimov V. N., Khavinson V. K., Mikhalski A. I., Yashin A. I. Effect of synthetic thymic and pineal peptides on biomarkers of aging, survival and spontaneous tumour incidence in female CBA mice // Mech. Aging Dev. 2001. Vol. 122. P. 41–68.
40. Anisimov V. N., Khavinson V. Kh., Morozov V. G. Carcinogenesis and aging. IV. Effect of low-molecular weight factors of thymus, pineal gland and anterior hypothalamus on immunity, tumor incidence and life span of C3H/Sn mice // Mech. Aging Dev. 1982. Vol. 19. P. 245–258.
41. 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.
42. Anisimov V. N., Loktionov A. S., Khavinson V. K., Morozov V. G. Effect of low-molecular-weight factors of thymus and pineal gland on life span and spontaneous tumour development in female mice of different age // Mech. Aging Dev. 1989. Vol. 49. P. 245–257.
43. Anisimov V. N., Popovich I. G., Zabezhinski M. A. Methods of evaluating the effect of pharmacological drugs on aging and life span in mice // In: Biological Aging: Methods and Protocols. Ed. by T. O. Tollefsbol (Methods in Molecular Biology; Vol. 371). Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007. P. 227–236.
44. Anisimov V. N., Popovich I. G., Zabezhinski M. A. et al. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen // Biochim. biophys. Acta. 2006. Vol. 1757. P. 573–589.
45. Anisimov V. N., Ukraintseva S. V., Yashin A. I. Cancer in rodents: Does it tell us about cancer in humans? // Nature Rev. Cancer. 2005. Vol. 5. P. 807–819.
46. Anisimov V. N., Zabezhinski M. A., Popovich I. G. Prevention of spontaneous and chemically-induced carcinogenesis using activated carbon fiber adsorbent. I. Effect of the activated carbon fiber adsorbent 'Aqualen' on spontaneous carcinogenesis and life-span in mice // Cancer Lett. 1998. Vol. 126. P. 23–28.
47. Anisimov V. N., Zavarzina N. Y., Zabezhinski M. A. et al. Melatonin increases both life span and tumor incidence in female CBA mice // J. Geront. Biol. Sci. 2001. Vol. 56A. P. B311–B323.
48. Arking R. Biology of aging: observations and principles. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice Hall, Inc., 1991.
49. Austad S. N. Issues in the choice of genetic configuration for animal aging models // Exp. Geront. 1997. Vol. 32. P. 55–63.
50. Austad S. N. Vertebrate aging research 2006 // Aging Cell. 2007. Vol. 6. P. 135–138.
51. Baker G. T., Sprott R. L. Biomarkers of aging // Exp. Geront. 1988. Vol. 23. P. 223–239.
52. Bellipanni G., Bianchi P., Pierpaoli W. et al. Effects of melatonin in perimenopausal and menopausal women: a randomized and placebo controlled study // Exp. Geront. 2001. Vol. 36. P. 297–310.
53. Blagosklonny M. V. An anti-aging drug today: from senescence-promoting genes to anti-aging pill // Drug Discovery Today. 2007. Vol. 12. P. 218–224.
54. Butler R. N., Fossel M., Harman M. et al. Is there an antiaging medicine? // J. Geront. Biol. Sci. 2002. Vol. 57A. P. B333–B338.
55. Canela A., Klatt P., Blasco M. A. Telomere length analysis // Methods Molec. Biol. 2007. Vol. 371. P. 45–72.
56. Cox D. R., Oakes D. Analysis of survival data. London: Chapman & Hall, 1984.
57. Dean W. Biological aging measurement // J. Gerontogeriatrics. 1998. Vol. 1. P. 64–85.
58. 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.
59. Dilman V. M., Anisimov V. N., Ostroumova M. N. et al. Increase in lifespan of rats following polypeptide pineal extract treatment // Exp. Path. 1979. Vol. 17. P. 539–545.
60. Fontana L., Meyer T. E., Klein S., Holloszy J. O. Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans // Proc. nat. Acad. Sci. 2004. Vol. 101. P. 6659–6663.
61. Garcia A. M., Busutti R. A., Rodriguez A. et al. Detection and analysis of somatic mutations at a lacZ reporter locus in higher organisms // Methods Molec. Biol. 2007. Vol. 371. P. 267–287.
62. Gart J. J., Krewski D., Lee P. N. et al. Statistical methods in cancer research. Vol. III. The design and analysis of long-term animal experiments. Lyon: IARC; IARC Sci. Publ. № 79, 1986.
63. Hayflick L. «Anti-aging» is an oxymoron // J. Geront. Biol. Sci. 2004. Vol. 59A. P. 573–578.
64. Hefti F. F., Bales R. Regulatory issues in aging pharmacology // Aging Cell. 2006. Vol. 5. P. 3–8.
65. IARC Handbooks of cancer prevention. Vol. 2. Carotenoids. Lyon: IARC, 1998.
66. Ingram D. K., Jucker M. Developing mouse models of aging: a consideration of strain differences in age-related behavioral and neural parameters // Neurobiol. Aging. 1999. Vol. 20. P. 137–145.
67. Ingram D. K., Nakamura E., Smucny D. et al. Strategy for identifying biomarkers of aging in long-lived species // Exp. Geront. 2001. Vol. 36. P. 1025–1034.
68. Itahana K., Campisi J., Dimri G. P. Methods to detect biomarkers of cellular senescence // Methods Molec. Biol. 2007. Vol. 371. P. 21–32.
69. Jafari M., Rose M. R. Rules for the use of model organisms in antiaging pharmacology // Aging Cell. 2006. Vol. 5. P. 17–22.

70. Kaplan E., Meyer P. Nonparametric estimation from incomplete observation // J. Amer. Statist. Ass. 1958. Vol. 53. P. 457–481.
71. 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. Geront. Med. Sci. 1999. Vol. 54A. P. 478–491.
72. McClearn G. E. Biomarkers of age and aging // Exp. Geront. 1997. Vol. 32. P. 87–94.
73. McKnight B., Crowley J. Tests for differences in tumor incidence based on animal carcinogenesis experiments // J. Amer. Statist. Ass. 1984. Vol. 80. P. 639–648.
74. Melby E. C., Altman N. H. (eds.). Handbook of laboratory animal science. Vol. I. Cleveland: CRC Press, 1974.
75. Miller R. A., Nadon N. L. Principle of animal use for gerontological research // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2000. Vol. 55. P. B117–B123.
76. Miller R. A., Harrison D. E., Astle C. M. et al. An Aging Intervention Testing Program: stuffy design and interim report // Aging Cell. 2007. Vol. 6. P. 565–575.
77. Minois N. How should we assess the impact of genetic changes on aging in model species? // Aging Res. Rev. 2006. Vol. 5. P. 52–59.
78. Montesano R., Bartsch H., Vainio H. et al. Long-Term and Short-Term Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. IARC Sci. Publ. No 83. Lyon: IARC, 1986.
79. Nadon N. L. Exploiting the rodent model for studies on the pharmacology of lifespan extension // Aging Cell. 2006. Vol. 5. P. 9–15.
80. Nelson J. F., Felici L. S., Randall P. K. et al. A longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J mice: I. Cycle frequency, length and vaginal cytology // Biol. Reprod. 1982. Vol. 27. P. 327–339.
81. Piskunova T. S., Yurova M. N., Ovsyannikov A. I. et al. Deficiency in poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) accelerates aging and spontaneous carcinogenesis in mice // Curr. Geront. Geriat. Res. Vol. 2008. Article ID 754190, 11 pages, 2008. doi:10.1155/2008/754190.
82. Poiley S. M. Housing requirements — general considerations // In: Handbook of laboratory animal science. Vol. I. E. C. Melby and N. H. Altman (Eds.). CRC Press: Cleveland, 1974. P. 21–60.
83. Popovich I. G., Zabezhinski M. A., Egormin P. A. et al. Insulin in aging and cancer: new antidiabetic drug Diabenol as geroprotector and anticarcinogen // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2005. Vol. 37. P. 1117–1129.
84. Quarrie J. K., Riabovol K. T. Murine models of life span extension // SAGE KE. <http://sageke.sciencemag.org/cgi/>.
85. Rangarajan A., Weinberg R. A. Comparative biology of mouse versus human cells: modeling human cancer in mice // Nat. Rev. Cancer. 2003. Vol. 3. P. 952–959.
86. Rattan S. I. S. (ed.). Modulating aging and longevity. Dordrecht-Boston-London: Kluwer Acad. Publ., 2003.
87. Rattan S. I. S. (ed.). Aging interventions and therapies. New Jersey: World Scientific Publ. Co, 2005.
88. Rhombert L. R., Baetcke K., Blancato J. et al. Issues in the design and interpretation of chronic toxicity and carcinogenicity studies in rodents: approaches to dose selection // Crit. Rev. Toxicol. 2007. Vol. 37. P. 729–737.
89. Sames K., Sethe S., Stolzing A. (eds.). Extending the lifespan. Biothechnological, gerontological, and social problems. Munster: Lit Verlag, 2005.
90. 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. nat. Cancer Inst. 1973. Vol. 50. P. 1195–1213.
91. Snyder D. L., Pollard M., Wostmann B. S., Lackert P. Life span, morphology, and pathology of diet-restricted germ-free and conventional Lobund-Wistar rats // J. Geront. 1990. Vol. 52. P. B52–B58.
92. Spindler S. R., Mote P. L. Screening candidate longevity therapeutics using gene-expression arrays // Gerontology. 2007. Vol. 53. P. 306–321.
93. Storer J. B. Longevity and gross pathology at death in 22 inbred mouse strains // J. Geront. 1966. Vol. 21. P. 404–409.
94. Taron R. E. Tests for trend in life table analysis // Biometrika. 1975. Vol. 62. P. 679–682.
95. Turnheim K. Drug therapy in the elderly // Exp. Geront. 2004. Vol. 39. P. 1731–1738.
96. Turturro A., Witt W. W., Lewis S. et al. Growth curves and survival characteristics of the animals used in the Biomarkers of Aging Program // J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci. 1999. Vol. 54. P. B492–B501.
97. Turusov V. S., Mohr U. (eds.). Pathology of tumours in laboratory animals. Volume I. Tumours of the mouse. 2nd ed. IARC Sci. Publ. № 111. Lyon: IARC, 1994.
98. Vainio H., Magee P., McGregor D., McMichael A. J. (eds.). Mechanisms of carcinogenesis in risk identification. IARC Sci. Publ. № 116, Lyon: IARC, 1992.
99. Van Zutphen L. F., Baumans V., Beynen A. C., eds. Principles of laboratory animal science. N.Y.: Elsevier, 2001.
100. Ward J. M. Background data and variations in tumor rates f control rats and mice // Progr. Exp. Tumor Res. 1983. Vol. 26. P. 241–258.
101. Warner H. R., Ingram D., Miller R. A. et al. Program for testing biological interventions to promote health aging // Mech. Aging Dev. 2000. Vol. 155. P. 199–208.
102. Warner H. R. Current status of efforts to measure and modulate the biological rate of aging // J. Geront. A Biol. Sci. Med. Sci. 2004. Vol. 59. P. 692–696.
103. Yi C., Pan X., Yan H. et al. Effects of melatonin in age-related macular degeneration // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005. Vol. 1057. P. 384–392.
104. Zs-Nagy I., Harman D., Kitani K. (eds.) Pharmacology of aging process. Methods of assessment and potential interventions. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1994. Vol. 717.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 237–252

V. N. Anisimov, M. A. Zabezhinski, I. G. Popovich

MODELS AND METHODS OF EVALUATION OF GEROPROTECTIVE ACTIVITY OF PHARMACOLOGICAL DRUGS

N. N. Petrov Research Institute of Oncology, 68 ul. Leningradskaya, Pesochny-2, St. Petersburg 197758, Russia;
e-mail: aging@mail.ru

Current approaches to evaluation of efficacy and safety of potential life span extending drugs (geroprotectors) are reviewed in the paper. The methods and protocol of evaluating the effect of pharmacological drugs on aging and life span in mice which have used by the authors are described in details. Principles and criteria of evaluation of degree of evidence the experimental studies in rodents as well as a possibility of extrapolation to humans are discussed.

Key words: life span, intervention, geroprotectors, mouse, human

А. В. Брушков¹, В. П. Мельников², Ю. Г. Суховой², Г. И. Грива², В. Е. Репин³,
Л. Ф. Каленова², Е. В. Бреннер³, А. М. Субботин², Ю. Б. Трофимова¹, М. Танака⁴,
Т. Катаяма⁴, М. Утсуми⁵

РЕЛИКТОВЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ КРИОЛИТОЗОНЫ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ОБЪЕКТЫ ГЕРОНТОЛОГИИ

¹ Тюменский государственный нефтегазовый университет, 625000 Тюмень, ул. Володарского, 56;

e-mail: brouchkov@hotmail.com; ² Тюменский научный центр СО РАН, 625000 Тюмень, ул. Малыгина, 86;

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090 Новосибирск, пр. Акад. Лаврентьева, 8;

⁴ Hokkaido University; ⁵ Institute of Agricultural and Forest Engineering, University of Tsukuba

Многолетнемерзлые породы широко распространены в северном полушарии, а их возраст достигает сотен тысяч и миллионов лет. Они содержат живые микроорганизмы, которые из-за сравнительно высокой температуры среды ($-2...-8\text{ }^{\circ}\text{C}$) не содержат льда, но находятся в иммобилизованном состоянии и, таким образом, имеют возраст, по-видимому, близкий к возрасту мерзлоты. Длительная жизнеспособность реликтовых микробных клеток, очевидно, обусловлена их механизмом защиты от тепловой деструкции и излучений, свободных радикалов и других повреждающих факторов. Из мерзлых отложений возрастом около 3 млн лет был выделен штамм *Bacillus sp.*, идентифицирована последовательность 16S rDNA и проведено предварительное тестирование его культуры на *Drosophila melanogaster*, а также лабораторных мышах. В экспериментах наблюдалась стимуляция иммунной системы и улучшение физического состояния последних, что в сочетании с возможным возрастом микробных клеток позволяет считать реликтовые микроорганизмы перспективными объектами изучения геронтологов.

Ключевые слова: реликтовые микроорганизмы, вечная мерзлота, иммуностимуляция, жизнеспособность

Введение

В условиях, когда изучение механизмов старения по-прежнему представляет собой актуальную фундаментальную проблему, исследование клеток, способных выживать на протяжении многих тысячелетий, может представлять интерес для геронтологии. Сама по себе находка реликтовых живых клеток представляет собой исключительное событие. Считалось, что бактерии, являясь, по сути, упрощенными подобиями клеток эукариот, живут или сохраняют жизнеспособность долго. Однако подтверждения этому нашлись лишь недавно. Показано, что споры сибирской язвы сохраняются около 105 лет [7, 16]. Получены колонии бактерий, которые были извлечены из янтаря возрастом 40 млн и более лет [12]. Однако перечисленные единичные находки не позволяют так утвердиться в мысли о феноменальной продолжительности жизни бактерий, как это произошло при исследо-

ваниях вечной мерзлоты. Территория вечной мерзлоты велика, только в Российской Федерации она занимает около 70 % площади. Она имеет температуры, в основном, около $-2...-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, а ее возраст составляет местами миллионы лет [3, 11].

Свидетельства жизнеспособности микроорганизмов в мерзлоте появились давно [1, 6, 7, 11]. В 1979 г. на Антарктической станции «Восток» обнаружены бактерии, грибы, диатомеи и другие микроорганизмы [1]. Метаболизм бактерий в вечной мерзлоте был отмечен при температурах около $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [11]. Имеются другие факты относительно жизнеспособности бактерий при температуре ниже $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ [6–8, 10, 14]. Микроорганизмы отличаются устойчивостью к замораживанию; многие из них его легко переносят [6, 8]. Известно, что при температурах ниже $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ часть воды в материалах (свыше 10 %) остается незамерзшей [5]. Не отрицая вероятности развития микроорганизмов в мерзлых породах, отметим, что их рост затруднен. Даже в лабораторных условиях стареющие культуры, как известно, прекращают расти. Кристаллизация воды и остановка обмена веществ уменьшает способность к росту [6]. Толщина прослоев незамерзшей воды при температурах -2 и $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ составляет приблизительно 0,01–0,1 микрон [5], то есть значительно меньше, чем размеры микроорганизмов. Эти проводящие пути практически непригодны для жизнеобеспечения, а о заметном переносе клеток в таком материале не может быть и речи. Поэтому можно быть уверенными, что бактерии в многолетнемерзлых породах представляют собой ископаемые, реликтовые организмы [11]. Их возраст подтверждается геологическими условиями, историей формирования мерзлых толщ, радиоуглеродными датировками, результатами изучения оптических изомеров аминокислот и, косвенно, биоразнообразием [14].

Природа длительной жизнеспособности микроорганизмов в древней мерзлоте не имеет исчерпывающего объяснения. Есть мнение, что в организме в состоянии анабиоза не происходит никаких химических и биологических реакций [6, 8]. Однако большинство белков в живой клетке, как известно, не стабильно [2, 13] и живут минуты, реже — дни. Генетические структуры подвержены мутациям, а репарации не столь эффективны, чтобы не допускать накопления повреждений [9]. На клеточные структуры действуют свободные радикалы и радиация. Тепловое движение атомов и молекул в водном растворе является самостоятельным разрушающим фактором, — температуры мерзлоты далеки от абсолютного нуля [2]. Цитоплазма клетки при таких температурах не замерзает [6, 8, 10]. Очевидно, что организм и в анабиозе подвержен разрушению и распаду. Так, данные по тепловой стабильности нуклеотидов [15] показывают, что из-за неустойчивости цитозина время, в течение которого цепь ДНК функциональна, едва ли превышает несколько сот лет. Если принять в расчет некоторую среднюю скорость мутаций [9], за тысячу лет в бактериальной хромосоме едва ли не каждый ген подвергнется изменению, а в течение миллиона лет от генетического аппарата, даже при условии функционирования репарационных систем, не останется «ничего живого». При отсутствии питания клетка может рассчитывать лишь на электрический заряд цитоплазматической мембраны, но его хватит на синтез лишь 100–150 молекул АТФ. Очевидно, что этой энергии недостаточно для сохранения целостности клеточных структур в течение длительного времени. Древняя ДНК мумий, мамонтов, насекомых в янтаре и других организмов оказывается разрушенной [12, 18]. Расчеты показывают, что даже небольшие фрагменты ДНК (100–500 нуклеотидов) могут сохраниться не более 10 000 лет в обычном климате и максимум до 100 000 лет в холодных районах [18]. Таким образом, представляется неясным, как бактерии выживают в тысячелетней мерзлоте. Следует предполагать существование механизмов, предотвращающих накопление повреждений. Нам представлялось целесообразным изучить влияние этих микроорганизмов на высшие организмы, тем более, что и иммунные реакции последних могут представлять интерес.

В настоящей работе описаны бактерии, найденные в древних мерзлых толщах Якутии, и приведены предварительные результаты тестирования биологической активности их культуры на дрожжах и лабораторных мышах.

Материалы и методы выделения микроорганизмов

Для исследования микроорганизмов в мерзлых породах были отобраны образцы из обнажений и подземных сооружений в нескольких районах. Одно из них расположено на левом берегу Алдана, в 325 км вверх по течению от его впадения в Лену, на Мамонтовой горе. Образцы были отобраны на 0,9–1 м глубже слоя сезонного оттаивания. Обнажение разрушается рекой (более метра в год), так что отложения, из которых отбирались образцы, находились, очевидно, в многолетнемерзлом состоянии. При этом происходит ежегодное весеннее смывание обрушений, предотвращающее завалы и смешение пород. Последние представляют собой тонкозернистые пески; их возраст соответствует среднему миоцену и составляет 10–12 млн лет [4]. Похолодание и промерзание отложений началось здесь в конце плиоцена, около 3–3,5 млн лет тому назад [3]. Позднее отложения не оттаивали из-за холодного климата Якутии. По данным палеоклиматических реконструкций региона, среднегодовые температуры в плейстоцене составляли от –12 до –32 °С зимой до +12 до +16 °С летом [3]. Таким образом, возраст мерзлоты на Мамонтовой горе может достигать 3,5 млн лет. Кроме того, образцы были отобраны из более молодых повторно-жильных льдов Якутии, из подземелья Института мерзлотоведения им. П. И. Мельникова СО РАН в Якутске, а также из подземных льдов в тоннеле Фокс на Аляске.

Пробы мерзлых пород отбирали с максимально возможными для полевых условий предосторожностями. Использовали стерилизованные спиртом и обожженные в пламени металлические инструменты (буры, пинцеты, скальпели). Для поверхностной стерилизации образцов пробу весом около 50 г помещали в стакан с 96 % раствором этанола, затем в пламя горелки и упаковывали в стерильную пробирку. Кроме того, отбирали монолиты мерзлых пород весом 4–5 кг. Отобранные породы хранили при температуре –5 °С, что было близко к естественным условиям. Транспортировку проб осуществляли в термоконтейнерах с хладагентами в мерзлом состоянии.

Образцы разного разведения в стерильных условиях добавляли в чашки Петри, содержащие среды *YPD*, *MRS* и *NA*. Образцы добавляли также в жидкий мясопептонный бульон в анаэробных и аэробных условиях.

ДНК извлекали с помощью *Fast DNA kit for soil* (BIO 101 Inc., Vista, CA). Фрагменты генов *16S rRNA* были амплифицированы полимеразной цепной реакцией, проводимой с бактериальными

праймерами. Реакцию проводили в объеме 20- μ л с помощью GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, Foster City, CA), ампликоны подвергали электрофорезу и очищению с помощью Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, USA). Очищенные ампликоны были клонированы с использованием pCR2.1 вектора, культуры *E. coli*, а также TA cloning kit (Invitrogen) в соответствии с рекомендациями производителя. Из суточной культуры ДНК плазмид, содержащей 16S rDNA, получена с помощью Mini prep spin kit (Qiagen, Crawley, UK). Очищенные ДНК плазмид секвенировали на ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer с помощью Big Dye Terminator cycle-sequencing kit (Applied Biosystems). Длина последовательности составила 1488 бп. Полученную последовательность сравнивали с другими, используя BLAST. Филогенетическое дерево строили с использованием CLUSTAL W software package [17].

Результаты выделения, изучения роста и идентификации микроорганизмов

В мерзлых миоценовых отложениях на Мамонтовой горе была обнаружена культивируемая бактерия, способная к аэробному и анаэробному росту; оптимальная температура роста определена в +37°C. Она представляет собой сравнительно большую (1–1,5 \times 3–6 микрон) палочку, которая в культуре соединяется в цепи (рис. 1) и способна образовывать споры. Она неподвижна и грамположительна. Микроорганизм принадлежит роду *Bacillus*, но, по-видимому, является новым видом. Нуклеотидная последовательность 16S rRNA бациллы была депонирована в DDBJ/EMBL/GeneBank под номером AB178889, идентификационный номер 20040510203204.24251. Наибольшее видовое подобие выделенной бациллы отмечено с *Bacillus simplex*, *B. macroides*, гомология с 16S rRNA которых составляет 96–97 %.

Рост бацилл при низких температурах наблюдался ранее [8]. Известно, что *Bacillus anthracis* легко переносит замораживание [7]. Оптимальная температура роста найденной бациллы довольно высока. Споры бацилл известны как наиболее резистентные [16]; так, *B. thuringiensis* и *B. macroides* были найдены в янтаре с абсолютным возрастом 120 млн лет [12]. Поэтому находка живой бациллы в древней мерзлоте Мамонтовой горы, в целом, не удивительна. Споры характерны для грамположительных родов *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptomyces* и других [16], а в последнее время стало известно, что их образуют и грамтрицательные микроорга-

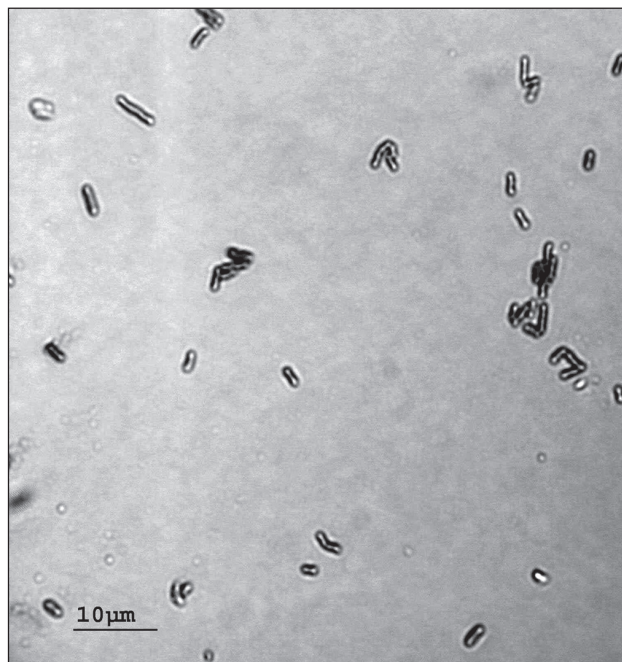


Рис. 1. Выделенный штамм *Bacillus sp.* Окраска по Граму

низмы, так что спорообразование — широко распространенный механизм выживания, в котором, возможно, участвует горизонтальный перенос генетической информации.

Из значительно более молодых повторно-жильных льдов Якутии и Аляски возрастом около 25–40 тыс. лет по описанной выше методике нами [14] были выделены уже десятки видов микроорганизмов. Большинство из выделенных бактерий грамположительны и близки к *Arthrobacter* и *Micrococcus sp.*, а грибы — к *Geomyces sp.*

Природа длительной жизнеспособности микроорганизмов

Молекулярные основы тепловой стабильности биологических материалов представляют собой нерешенную проблему [2, 13, 15]. Стабильность белка определяется величиной свободной энергии G , которая характеризуются значением $G=5–15$ ккал/моль [2]. Доля разрушенных областей структуры, отнесенная к доле упорядоченных областей (k), представляется следующей:

$$k = e^{-\frac{G}{RT}},$$

где G — свободная энергия перехода от упорядоченной области к случайной, ккал/моль; T — температура, °K; R — газовая константа, ~0,001989 ккал/моль.

Это выражение может быть использовано для приблизительной оценки времени жизни биомолекул. При этом, для $G=30$ ккал/моль время суще-

ствования молекулы составляет около 300 лет. Для периода температурных колебаний 10^{-8} – 10^{-9} с и $G=20$ ккал/моль время их существования — менее года. Максимальное известное значение энергии активации — приблизительно 45 ккал/моль, обычно меньше [2]. Приведенные оценки очень приблизительны, но и они показывают, насколько нестабильны белки и ДНК. Данные по тепловой неустойчивости нуклеиновых кислот приведены в работе [15]. Интересны в этом смысле данные по времени жизни наиболее устойчивого среди вирусов вируса натуральной оспы. Показано, что оно совпадает с приведенными расчетными данными и составляет несколько сотен лет [7]. Особый интерес, конечно, представляют микроорганизмы, сохраняющиеся в природных условиях при низких температурах протяженные временные периоды [11, 14]. Прослеживается возможность комбинаторных преобразований, предсказанных ранее [7]. Нельзя не отметить в этом аспекте существование таких биокатализаторов, как рибозимы. В нашем случае может оказаться важно, что рибозимы стабильны и активны при температуре ниже 0°C . Большое разнообразие реликтовых микроорганизмов, выделенных из ледяной жилы возрастом 25–40 тыс. лет [14], возможно, объясняется кодированием свойства длительной жизнеспособности мобильными генетическими структурами типа плазмид.

Таким образом, длительное существование микроорганизмов трудно объяснить замедлением жизнедеятельности при анабиозе. Если бактерии образуют споры, в которых метаболизм практически остановлен [14], приведенные выше расчеты по денатурации хотя бы только ДНК тем более уместны. Многообразие механизмов повреждения ДНК (метилование, деаминирование, апуринизация, образование тиминового димеров, сшивок и разрывов) приводит в рамках данной гипотезы к переоценке времени жизни макробиомолекул, еще более сокращая ее продолжительность. Очевидно, что выживание обусловлено наличием особых репарационных или консервационных механизмов.

Тестирование культуры бацилл на высших организмах

Тестирование на мушках *Drosophila melanogaster*

Для эксперимента отбирались особи *Drosophila melanogaster* одного возраста (1 сут). Их помещали в пробирку с питательной средой (5–7 мл) по 5 пар. Объем выборки для каждой группы составил 100 мух. Отбор особей для эксперимента проводили путем эфиризации, погибших и выживших мух учитывали каждые 3-и сутки. Эксперимент про-

водили с суточной культурой *Bacillus sp.* (штамм 3М), выращенной на мясоептонном бульоне. В пробирку с опытной группой вносили культуру в объеме 20 мкл. Эксперимент включал контрольную группу, в которой мух содержали на среде с добавлением дрожжей, и опытную, когда первые 5 сут мух содержали на среде с добавлением дрожжей, затем 1 сут — на среде с бациллой (чередование весь период наблюдения). Для определения плодовитости отбирали виргинных мух в день вылета. Самок и самцов помещали отдельно и выдерживали 5 сут до достижения ими максимальной плодовитости. Затем помещали попарно в пробирки со съёмными крышками. Дно крышек заливали агар-агаром кондитерским с добавлением сахара. Учет плодовитости проводили ежесуточно на протяжении 6 дней. Учитывали количество отложенных яиц, а через сутки определяли количество неразвившихся яиц.

При добавлении на поверхность питательной среды 75 мкл штамма 3М в физрастворе (1 млрд кл/мл) наблюдали снижение плодовитости по отношению к контрольной группе в 5 раз. Средняя плодовитость самки составила в контрольной группе $58,1 \pm 8,61$ шт., в опытной — $10,2 \pm 3,44$ шт. При добавлении бактериальной культуры после выдерживания мушек на дрожжах, несмотря на гибель мушек в опытной и контрольной группах после 50 дней, отмечалось превышение доли выживших мух с 24-х по 42-е сутки эксперимента по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

Тестирование на лабораторных мышах

Подготовку бактериальной культуры проводили аналогично методике тестирования на дрозофилах; использовали суточную культуру *Bacillus sp.* (штамм 3М), однако перед введением проводили ее замораживание и оттаивание. Эксперименты проводили на мышах F1 CBA/Black-6, в среднем по 15 особей в каждой группе. В первой серии экспериментов изучали влияние доз культуры на параметры иммунной системы молодых животных (возраст 3–4 мес). Использовали две группы животных, одна из которых была контрольной, а опытной группе вводили физиологический раствор. Бактериальную культуру вводили животным однократно внутрибрюшинно 5000; 50 000; 500 000; 5 000 000 и 50 000 000 микробных тел (м. т.) на животное. Во второй серии экспериментов оценивали влияние бактериальной культуры на физиологические и поведенческие реакции «пожилых» мышей (возраст 17 мес), при этом культуру вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 5000 м. т. Контрольная группа была представлена жи-

вотными того же возраста. Эвтаназию животных проводили методом дислокации шейных позвонков. По стандартным методикам оценивали морфобиологическую активность тимуса и селезенки по индексу органа (отношение массы органа к массе тела, %), активность факторов неспецифической иммунорезистентности по уровню фагоцитарной (ФП, %) и метаболической (НСТ-тест, %) активности селезеночных макрофагов, клеточного иммунитета в реакции ГЗТ *in vivo*, активность гуморального иммунитета по числу антителообразующих клеток в 1 млн ядродержащих клеток в селезенке, мышечная сила животных в тесте поднятия груза, поведенческие реакции в тесте «Открытое поле», а также продолжительность жизни.

Оказалось, что доза бацилл *Bacillus sp.* (штамм 3М) в 5000 м. т. способствует увеличению индексов тимуса и селезенки на 60–80 %. Культура бацилл в малой дозе (5000 м. т.) стимулирует, а в средних дозах (500 000 и 5 000 000 м. т.) подавляет фагоцитарную активность селезеночных макрофагов. Культура бацилл почти во всех дозах повышает активность гуморального иммунитета, а доза в 5000 м. т. способствует увеличению функциональной активности и клеточного, и гуморального иммунитета.

В этой связи, для исследований влияния культуры на продолжительность жизни была выбрана доза в 5000 м. т. Минимальный срок жизни мышей из контрольной группы составил 589 дней, а максимальный — 833 дня. Минимальный срок жизни мышей из опытной группы составил 836 дней, а максимальный — 897 (рис. 3). Масса тела животных опытной группы была выше, чем у животных контрольной группы, через 2 мес после введения культуры. Мышечная сила у опытных животных увеличилась (около 60 %) относительно сверстников

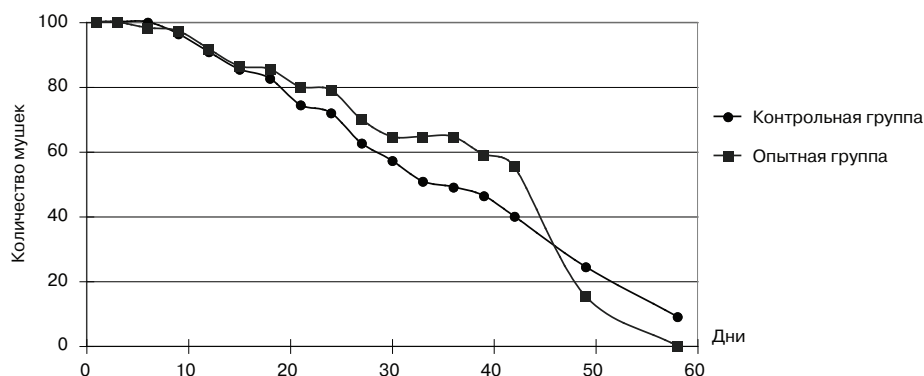


Рис. 2. Влияние культуры *Bacillus sp.* (штамм 3М), на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*

из контрольной группы. О повышении у животных способности к ориентации в пространстве и исследовательской активности свидетельствовало более частое посещение ими внутренних секторов открытого поля, увеличение числа вертикальных стоек и посещения норок. По-видимому, бактериальная культура при парентеральном введении стимулирует иммунную систему и улучшает эмоциональную устойчивость лабораторных животных. Увеличение продолжительности жизни мышей свидетельствует о возможном присутствии в бактериальной культуре *Bacillus sp.* герпротекторов. Следует подчеркнуть, что исследования свойств культур реликтовых микроорганизмов следует считать весьма предварительными как с точки зрения их объема, так и постановки.

Выводы

Выделение и идентификация реликтовых микроорганизмов из вечной мерзлоты представляет собой самостоятельную задачу микробной экологии.

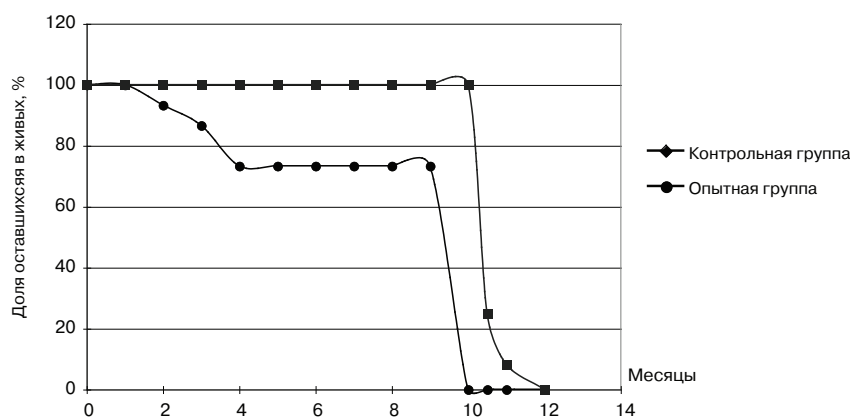


Рис. 3. Влияние культуры *Bacillus sp.* (штамм 3М), при парентеральном введении 5000 клеток на продолжительность жизни лабораторных мышей 17-месячного возраста

гии и систематики в связи с обилием новых видов. Природа их длительной жизнеспособности при температурах около $-2...-8^{\circ}\text{C}$ нуждается в исследовании.

Из вечной мерзлоты Мамонтовой горы, возраст которой достигает около 3,5 млн лет, выделен и идентифицирован по 16S rDNA штамм *Bacillus sp.* ЗМ. Для мерзлоты более молодого возраста (25–40 тыс. лет) характерно содержание большой группы микроорганизмов, в том числе грибов.

Снижение в отдельных экспериментах смертности мух *Drosophila melanogaster*, а также лабораторных мышей в сочетании со стимуляцией иммунной системы и улучшением физического состояния последних позволяет считать перспективными исследования реликтовых микроорганизмов в геронтологии.

Мы благодарны академику В.В. Власову (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН), профессору В.Н. Анисимову (Институт онкологии им. Н.Н. Петрова) и профессору П. Вильямсу (Scott Polar Research Institute, Cambridge, UK) за поддержку настоящей работы и полезные дискуссии, а также сотрудникам Министерства экологии Республики Саха (Якутия) за помощь в полевой работе.

Литература

1. Абызов С.С., Бобин Н.Е., Кудряшов Б. Б. Микробиологические исследования ледника в Центральной Антарктиде // Изв. АН СССР (Сер. биол.). 1979. № 6. С. 828–836.
2. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975.
3. Бакулина Н. Т., Спектор В. Б. Реконструкция климатических параметров неогена Якутии по палинологическим данным // В кн.: Климат и мерзлота / Под ред. Г. Н. Максимова и А. Н. Федорова. Якутск: Изд-во Ин-та мерзлотоведения, 2000. С. 21–32.

4. Баранова Ю. П., Ильинская И. А., Никитин В. П. и др. Миоцен Мамонтовой горы // Тр. ГИН СО АН СССР. М.: Наука, 1976.
5. Брушков А.В., Власов А.Н., Мерзляков В. П., Талоннов А.В. Влияние локальных фазовых переходов на деформируемость пластично-мёрзлых грунтов // Геозкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. 1995. № 5. С. 71–77.
6. Лозина-Лозинский Л. К. Очерки по криобиологии. Л.: Наука, 1972.
7. Репин В.Е., Пугачев В.Г., Таранов О.С. и др. Потенциальная опасность микроорганизмов, пришедших из прошлого // В кн.: Юкагирский мамонт / Под ред. Г. Г. Боескорова, А. Н. Тихонова, Н. Сузуки. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2007. С. 183–190.
8. Ashcroft F. Life at the Extremes. Harper Collins, 2007.
9. Cairns J. Overbaugh J., Miller S. The origin of mutations // Nature. 1994. № 335. P. 142–145.
10. Clein J. S., Schimel J. P. Microbial activity of tundra and taiga soils at sub-zero temperatures // Soil Biol. Biochem. 1995. № 27. P. 1231–1234.
11. Friedmann E. I. Permafrost as microbial habitat // In: Viable Microorganisms in Permafrost. Russian Academy of Sciences. Pushchino, 1994. P. 21–26.
12. Greenblatt C. L., Davis A., Clement B. G. et al. Diversity of Microorganisms isolated from amber // Microbial Ecology. 1999. № 38. P. 58–68.
13. Jaenicke R. Stability and Folding of Ultrastable Proteins // In: Eye Lens Crystallins and Enzymes from Thermophiles. FASEB. 1996. № 10. P. 84–92.
14. Katayama T., Tanaka M., Moriizumi J. et al. Phylogenetic analysis of bacteria preserved in a permafrost ice wedge for 25,000 years // Appl. Environ. Microbiol. 2007. Apr. P. 2360–2363.
15. Levy M., Miller S. L. The stability of the RNA bases: Implications for the origin of life // Biochemistry. 1998. № 95 (14). P. 7933–7938.
16. Nicholson W. L., Munakata N., Horneck G. et al. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000. № 64. P. 548–572.
17. Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Res. 1994. № 22. P. 4673–4680.
18. Willerslev E., Cooper A. Ancient DNA // Proc. roy. Soc. B. 2005. № 272. P. 3–16.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 253–258

A. V. Brouchkov¹, V. P. Melnikov², Yu. G. Sukhovei², G. I. Griva², V. E. Repin³, L. F. Kalenova², E. V. Brenner³, A. M. Subbotin², Y. B. Trofimova¹, M. Tanaka⁴, T. Katayama⁴, M. Utsumi⁵

RELICT MICROORGANISMS OF CRYOLITHOZONE AS POSSIBLE OBJECTS OF GERONTOLOGY

¹ Tyumen State Oil and Gas University, 56 ul. Volodarskogo, Tyumen 625000, e-mail: brouchkov@hotmail.com; ² Tyumen Science Center, Siberian Branch of RAS; 86 ul. Malygina, Tyumen 625000; ³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of RAS; 8 pr. Acad. Lavrentieva, Novosibirsk 630090;

⁴ Hokkaido University; ⁵ Institute of Agricultural and Forest Engineering, University of Tsukuba

Permafrost is widely distributed in the Northern Hemisphere, and its age reaches hundreds of thousands and millions of years. Permafrost contains alive microorganisms which are not frozen due to relatively high temperature of the environment ($-2...-8^{\circ}\text{C}$), but the microorganisms are immobilized and therefore aged probably similar to the age of permafrost. Longevity of the relict microbial cells is related obviously to their mechanism of protection against heat, radiation, free radicals and other damaging agents. A strain of *Bacillus sp.* was isolated from permafrost aged of about 3 million years, 16S rDNA sequence was identified and preliminary testing of bacterial culture on *Drosophila melanogaster* and mice was made. Immune stimulation and improvement of physical condition were observed, and that, together with the age of the microbial cells, presents the relict microorganisms as objects of gerontology.

Key words: relict microorganisms, permafrost, stimulation of immune system, vitality

*А. И. Божков, В. Л. Длубовская, Ю. В. Дмитриев, Н. И. Мешайкина, В. А. Малеев,
Е. М. Климова*

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ «МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ» В ФОРМИРОВАНИИ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ НА СТРЕСС-ФАКТОРЫ У МОЛОДЫХ И ВЗРОСЛЫХ ОРГАНИЗМОВ

НИИ биологии Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, Украина, 61077 Харьков, пл. Свободы, 4;
e-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

Исследовали влияние длительных комбинированных воздействий серноокислой меди и голодания у молодых (3-месячных) и взрослых (21-месячных) крыс Вистар на активность глюкозо-6-фосфатазы (Г-6-Фаза), аланин-аминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и фосфорилирующую активность митохондрий печени с целью установления роли метаболической памяти на особенности формирования ответной реакции у этих животных. Показано, что взрослые животные не уступали молодым по способности к индукции активности Г-6-Фазы, АЛТ и окислительного фосфорилирования после влияния серноокислой меди и голодания. Существующие в контрольных группах возрастные различия в активности Г-6-Фазы, трансфераз и фосфорилирующей активности митохондрий полностью устранялись после длительных влияний исследуемых стресс-факторов. Обнаружено, что ответная реакция исследуемых ферментов на последовательные многократные влияния стресс-факторов зависят не от возраста как такового, а от накопленной данным организмом в процессе адаптации метаболической памяти, и в этом смысле онтогенез может быть представлен как результат адаптиогенеза. Метаболическая память может по-разному модифицировать ответ системы на последующее воздействие. Можно выделить три типа метаболической модификации ответа на последующие стресс-факторы: сохранение ответа неизменным (проявление метаболической памяти), формирование нового «парадоксального» ответа на первичное влияние и проявление суперактивации метаболической системы (гормезис).

Ключевые слова: *возраст, метаболическая память, адаптиогенез, активность ферментов*

В 2007 г. исполнилось 100 лет «Этюдям оптимизма», в которых И. И. Мечников писал: «Крайне важно установить причины нашей старости. В гипотезах на этот счет нет недостатков, отсутствуют, скорее, точные данные» [12]. За последние 100 лет появились десятки новых гипотез [11, 13, 15, 16, 18, 19], накоплен огромный экспериментальный материал, демонстрирующий молекулярно-генетические и физиологические различия между молодыми и старыми животными. Однако окончательного ответа на поставленный

И. И. Мечниковым вопрос пока нет. Вероятно, от наших исследований ускользает нечто чрезвычайно важное, и до тех пор, пока мы не будем знать закономерности темпорального единения биологических систем со средой обитания, нам не понять, что есть старение и почему оно столь индивидуализировано.

Современная парадигма геронтологии утверждает, что продолжительность жизни зависит от адаптационных возможностей организма. Поскольку в процессе онтогенеза способности к адаптации снижаются, то увеличивается вероятность возникновения патологий и наступление смерти. С точки зрения человеческой логики, такая трактовка вполне обоснована. Если мы принимаем эту парадигму, то, контролируя адаптационные системы организма, можно было бы регулировать продолжительность жизни.

К сожалению, это не так, хотя современный уровень знаний и позволяет обеспечить регуляцию функции иммунной и других систем, обеспечивающих адаптацию организма к разнообразным факторам среды [1, 7]. В этом отношении сегодня возлагают большие надежды на регенеративную медицину и, прежде всего, использование стволовых клеток [6, 14].

Действительно, с увеличением возраста ответные реакции организма на однотипные воздействия отличаются от таковых у молодых организмов, однако это не всегда следует трактовать как снижение адаптационного потенциала. Вероятнее всего, с возрастом меняется стратегия адаптации, а не способности организма к ней [5]. Принципиально важно определить, действительно ли происходит «потеря» адаптационного потенциала с возрастом или же он, этот потенциал, по каким-то причинам не используется организмом старых животных.

Для решения этого вопроса необходимо исследовать временные характеристики адаптации к комплексу факторов среды у молодых и взрослых животных, чему и посвящена настоящая работа.

Ранее была высказана гипотеза, согласно которой старение — это неспецифический интегральный процесс, реализующийся как следствие накопления эпигенетической памяти в результате непрерывного процесса адаптации к эндо- и экзогенным факторам, что неизбежно ведет к смене стратегий дальнейшей адаптации и формированию порочных кругов метаболизма [4]. Если это так, то можно ожидать, что в процессе адаптации к какому-либо фактору будет формироваться «стойкая» или «кратковременная» метаболическая память, которая будет оказывать влияние на дальнейшую адаптацию, а точнее, на формирование новых функциональных характеристик в случае влияния на этот же организм нового стресс-фактора. Важно оценить сходства или различия становления функциональной активности метаболических систем у молодых и взрослых животных в ответ на смену стресс-факторов среды. Мы считаем, что такой подход является обоснованным в исследовании закономерности формирования метаболической памяти в процессах адаптации биологических систем к разнообразным факторам среды. В настоящей работе определяли изменение активности глюкозо-6-фосфатазы (Г-6-Фазы) — одного из ключевых ферментов глюконеогенеза, аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), активность которых указывает на уровень интенсивности трансаминирования аминокислот, а также фосфорилирующую активность митохондрий печени у молодых и взрослых животных, адаптированных к сернокислой меди, и повторный ответ этих функциональных систем на длительное калорийно ограниченное питание у молодых и взрослых животных.

Обоснование схемы эксперимента

Цель экспериментальной работы сводилась к установлению временных особенностей формирования ответной реакции на ограниченное питание у молодых и взрослых животных, которые предварительно были адаптированы к одинаковому воздействию (сернокислой меди), для доказательства или опровержения гипотезы о том, что ответная реакция организма (как результат предыдущих адаптивных изменений) зависит не от возраста как такового, а от имеющейся у организма эпигенетической (мета-

болической) памяти. Или, другими словами, проверяли следующую гипотезу: с возрастом не утрачивается возможность адаптации к новым факторам, а используется иная стратегия адаптации, характер которой определяется сформировавшейся в результате уже прошедших адаптивных процессов эпигенетической (метаболической) памяти.

В работе использованы такие понятия, как эпигенетическая память — сформировавшаяся в процессе функционирования стойких паттернов экспрессируемых генов и, как следствие, формирование метаболической памяти — стойких взаимосвязанных метаболических циклов, обеспечивающих гомеостатический уровень регуляции. Так как гомеостаз может поддерживаться благодаря сочетанию разных метаболических вариантов, то длительное использование одних и тех же циклов может перейти в стабильное состояние, то есть не изменяться в случае смены регулирующих факторов среды. Метаболическая память может рассматриваться как производная эпигенетической памяти. Однако можно полагать, что метаболические изменения будут оказывать регуляторное влияние и на эпигеном.

Первичное адаптивное влияние — это такое, как правило, экспериментальное длительное и многократное влияние одного фактора, с которым организм встречается впервые и на него вырабатывается устойчивость, что определяется выбором оптимальных для данного случая метаболических вариантов ответа.

Генеральное или повторное адаптивное влияние — это влияние, с которым организм ранее не сталкивался, и оно осуществляется после завершения или на фоне первичного адаптивного влияния.

В качестве первичного адаптивного влияния использовали последовательные трехкратные введения животным сернокислой меди с интервалами между введениями 48 ч; такая схема влияния обеспечивает индукцию адаптивных изменений у молодых и взрослых животных [2, 8].

При введении экспериментальным животным ксенобиотиков принято рассчитывать дозу вещества на массу тела. Однако с возрастом изменяется соотношение массы тела к массе печени за счет увеличения доли жировой, мышечной и соединительной тканей, а так как ионы меди локализуются в печени, то в этом случае нагрузка на единицу массы печени у взрослых и старых животных больше, по сравнению с молодыми. Исходя из этого, экспериментальным животным вводили дозу сернокислой меди в расчете на 1 г массы печени, а не

массы животного. Для этого предварительно была построена номограмма соотношения массы печени к массе тела животных как онтогенетически изменяющегося параметра.

Повторному адаптивному воздействию экспериментальные животные подвергались спустя 15 сут после первичного воздействия. В качестве повторного воздействия использовали диету, задерживающую рост животных. (Ранее было показано, что при содержании на таком рационе в течение 30 и более дней у молодых и взрослых животных наблюдали разные стратегии метаболической адаптации, при этом изменялась активность Г-6-Фазы и трансфераз [9].) Задержку роста животных осуществляли кормлением их полноценными по составу комбикормами 1 раз в 48 ч в одно и то же время суток.

Для решения поставленных задач определяли активность двух ферментных систем Г-6-Фазы микросом печени, АЛТ и АСТ в сыворотке крови, а также показатели фосфорилирующей активности митохондрий печени (V_3) и дыхательный контроль по Чансу (ДК_ч).

Материалы и методы

Все экспериментальные животные были разделены на четыре группы, по 6–9 животных в каждой. Исследования проводили параллельно на молодых (3 мес) и взрослых (21 мес) самцах. 1-я группа находилась в течение всего эксперимента на стандартном рационе вивария и не подвергалась никаким специальным влияниям. 2-й группе животных трижды внутрибрюшинно вводили раствор сернокислой меди в дозе 0,23 мг на 1 г массы печени с интервалом 48 ч. При этом они находились 30 сут после последнего введения сернокислой меди на обычном рационе вивария. 3-я группа молодых и взрослых животных находилась на специализированном корме, который они получали 1 раз в 48 ч, то есть кормление через день на протяжении 30 дней, после чего определяли те же показатели, что и в предыдущих группах животных.

4-ю группу молодых и взрослых животных подвергали первичному адаптивному воздействию так, как описано для 2-й группы животных, однако через 15 дней после последнего введения сернокислой меди их переводили на кормление через день комбикормами на 30 дней, после чего у них определяли те же показатели, что и у остальных групп животных.

Каждые 10 дней определяли массу тела всех экспериментальных животных.

Печень перфузировали физиологическим раствором и гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы. Микросомы выделяли методом дифференциального центрифугирования при температуре 4 °С. Гомогенат печени в 0,25 М сахарозе центрифугировали в течение 20 мин при 10000 g, супернатант сливали, осадок использовали для выделения митохондрий. Для этого его суспензировали в 0,25 М сахарозе, приготовленной на 0,01 М трис-*HCl*-буфере, 0,001 М этилендиаминацетате. Центрифугировали повторно в течение 20 мин при 10000 g, выделенные митохондрии инкубировали в среде 0,15 М сахарозы, 0,07 М *KCl*, 0,005 М *MgSO*₄, 0,01 М трис, 0,005 М *KH*₂*PO*₄, 0,005 М сукцинат. Дыхание и окислительное фосфорилирование изолированных митохондрий регистрировали полярографическим методом с использованием закрытого платинового электрода типа Кларка.

Супернатант центрифугировали при 105 000 g в течение 60 мин. Осадок микросомной фракции суспензировали в 0,25 М растворе сахарозы. В полученной суспензии микросом определяли содержание белка по Лоури и активность Г-6-Фазы. Определение активности Г-6-Фазы проводили, как описано в [17].

В сыворотке крови определяли активность АЛТ и АСТ унифицированным методом Вайтмана–Френкеля с использованием набора «LaChema a.s.» (Чехия). Метод заключается в фотометрическом определении содержания пирувата в пробе на основе реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Измерение экстинкции осуществляли на приборе StatFax 1904 (США) при длине волны 500 нм. Активность ферментов рассчитывали по калибровочному графику, построенному на основе ряда разведений сыворотки с известной концентрацией аминотрансфераз [22].

В эксперименте использованы 60 крыс линии Вистар. При работе с животными руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», умерщвление проводили под эфирным наркозом.

Полученные результаты обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Активность Г-6-Фазы

Активность Г-6-Фазы у 21-месячных животных контрольной группы (стандартный рацион)

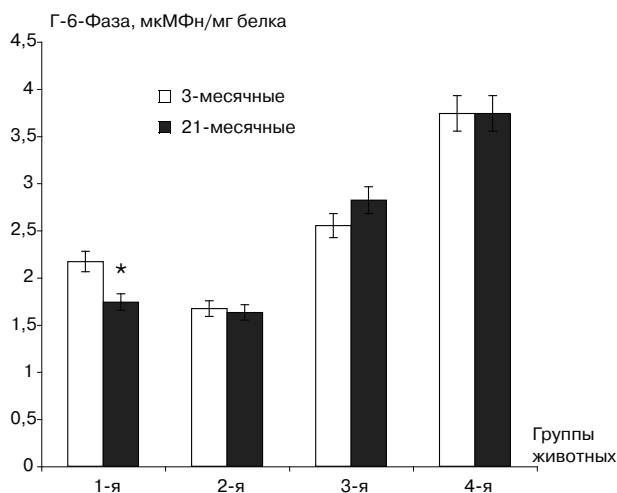


Рис. 1. Активность Г-6-Фазы (мкМ Ф/мк белка) 3- и 21-месячных крыс
Здесь и на рис. 3–6: * Обозначена разница между 3- и 21-месячными животными при $p < 0,05$.

была на 20 % ниже по сравнению с 3-месячными животными (рис. 1, 1-я группа). Этот факт давно отмечен и указывает на возрастзависимое изменение в метаболизме углеводов и, вероятно, перестройку структурно-функциональных характеристик мембран эндоплазматической сети.

Ранее было показано, что внесение ионов Cu^{2+} в систему микросом сопровождается активацией Г-6-Фазы при концентрациях 0,005 мМ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ и ингибированием активности этого фермента практически до нуля при концентрациях 0,05–5,0 мМ [2]. При многократных последовательных введениях сернокислой меди в организм животных у них формируется устойчивость к летальным для крыс дозам сернокислой меди [8]. Однако остается неясным, как изменяется активность Г-6-Фазы у молодых и взрослых животных

после завершения адаптивных перестроек. Было показано, что к 15–30-му дню после действия сернокислой меди завершается острый воспалительный процесс [7].

Оказалось, что спустя 30 дней после последнего введения меди активность Г-6-Фазы снижалась на 23 % у 3-месячных крыс по сравнению с их контрольным уровнем; в то же время у 21-месячных животных этот показатель оставался таким же, как и в соответствующей контрольной группе (см. рис. 1, 2-я группа).

Следовательно: 1) активность Г-6-Фазы снижалась у 3-месячных животных после трех последовательных введений сернокислой меди в дозе 0,23 мг на 1 г массы печени и оставалась на этом уровне достаточно долго — не менее 30 дней; 2) введение сернокислой меди не оказывало влияния на активность Г-6-Фазы по сравнению с контрольным уровнем у 21-месячных крыс; 3) введение сернокислой меди устраняло существующие у контрольных групп животных возрастзависимые различия в активности Г-6-Фазы.

Одним из факторов, влияющих на метаболизм, в частности углеводов, является калорийно ограниченное питание [3]. В качестве модели ограниченного питания использовали кормление животных специальными комбикормами через день (1 раз в 48 ч). При этом наблюдалась задержка роста 3-месячных крыс, и они останавливались в росте; потеря массы тела 21-месячных животных составляла до 20 % от исходной массы тела к 50-му дню эксперимента (рис. 2).

Активность Г-6-Фазы в микросомах 3-месячных животных, получавших комбикорм через день на протяжении 30 дней, не отличалась от уровня в контрольной группе и была выше на 53 % по

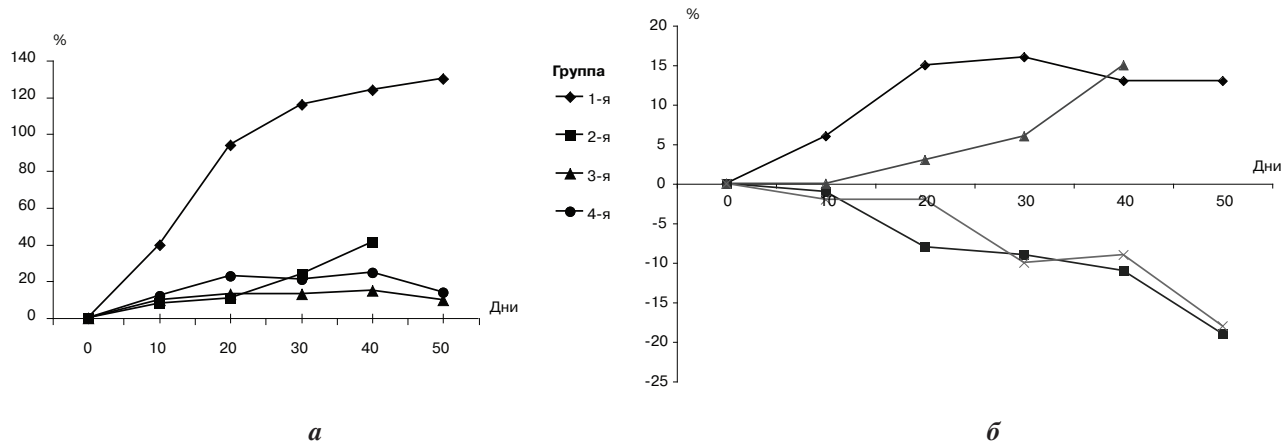


Рис. 2. Масса 3- (а) и 21-месячных (б) крыс

сравнению с животными, которым вводили сернокислую медь (см. рис. 1, 3-я группа). У взрослых животных, получавших корм через день, активность Г-6-Фазы была на 63% выше ее уровня в контрольной группе и на 73% выше по сравнению с животными, получавшими сернокислую медь (см. рис. 1, 3-я группа). Можно полагать, что такое влияние направлено на компенсаторный ответ измененного углеводного обмена в результате первичной адаптации.

Следовательно: 1) ограничение и задержка роста животных (кормление через день) сопровождалось значительным увеличением активности мембрано-связанного фермента Г-6-Фазы; 2) индукция активности Г-6-Фазы у взрослых животных не уступала по степени индукции этого фермента у молодых животных, и это воздействие так же, как и сернокислая медь, устраняло возрастзависимые различия в активности Г-6-Фазы, характерные для контрольной группы животных.

С целью проверки зависимости ответа от исходного состояния системы, то есть преадаптации, и доказательства обратимости патологических и функциональных изменений у молодых и взрослых животных оценивали активность Г-6-Фазы у животных после формирования у них гепатита на фоне действия сернокислой меди с последующим кормлением животных через день. Эти две модели интересны в том смысле, что они индуцировали изменения в активности Г-6-Фазы, и эти изменения были разнонаправленными в том смысле, что ионы меди уменьшали или не оказывали влияния на активность этого фермента, в то время как голодание не влияло или увеличивало активность Г-6-Фазы у взрослых. Такая модель позволяет оценивать возможный эффект сохранения или устранения первичного воздействия на повторное влияние.

Для этого молодым и взрослым животным вводили медь по той же схеме, и спустя 15 дней после последнего введения (время, необходимое для формирования гепатита и выведения избытка ионов меди из организма) их переводили на кормление комбикормом через день. Животные находились на такой диете 30 дней, как и в предыдущей схеме исследования.

Оказалось, что молодые животные, которые получали сернокислую медь, и после перевода на кормление через день лучше набирали массу тела (на 5–10%), по сравнению с животными, получавшими комбикорм через день и не подвергавшимися действию сернокислой меди. Взрослые животные менее выражено теряли массу тела по сравнению с

группой, получавшей только кормление через день (см. рис. 2).

Определение активности Г-6-Фазы у этих животных показало, что через 30 дней после перевода молодых животных на кормление через день она увеличивалась по сравнению с ее значением в контрольной группе — с животными, получавшими сернокислую медь и только комбикорм, соответственно, на 72, 124 и 47% (см. рис. 1). У взрослых животных активность Г-6-Фазы увеличивалась на 116, 129 и 33% по сравнению с контрольной группой — с животными, получавшими только сернокислую медь и только комбикорм через день, соответственно (см. рис. 1).

Необходимо отметить, что в этом случае значения активности Г-6-Фазы у молодых и взрослых животных совпадали между собой ($3,74 \pm 0,31$ и $3,74 \pm 0,43$).

Следовательно, ингибирование активности Г-6-Фазы, вызванное введением животным сернокислой меди, легко устранялось у 3-месячных животных или восстанавливалось кормлением животных через день; при этом возрастные различия, существующие для этого показателя в контрольной группе, устранялись. Более того, мы имеем дело с новым эффектом, который проявлялся не только в сильном увеличении активности Г-6-Фазы, но и изменением массы животных, то есть проявлялся на физиологическом уровне.

Из этого не следует, что изменения, возникшие при формировании гепатита, «обратимы», то есть могут быть устранены. Однако это может свидетельствовать о том, что компенсаторные функции патологически измененной печени сохраняются и у взрослых животных, и по этому показателю они не отличались от молодых. Ответная реакция метаболической системы на очередное воздействие определялась ее предысторией, то есть тем исходным состоянием, которое сформировалось благодаря предыдущим адаптивным изменениям (метаболическая память). Это может приводить не только к сохранению характеристик, но и к формированию новых количественных проявлений ответа (в «суперактивации» Г-6-Фазы и уменьшении доли угнетения роста массы животных).

Предыдущие воздействия могут, вероятно, по-разному влиять на последующее формирование ответной реакции метаболических систем, характер которых может быть различен. Для проверки этого в следующей серии экспериментов определяли активность трансфераз у животных, которых под-

вергали таким же воздействиям, как в описанной схеме эксперимента.

Активность АЛТ

Определение активности АЛТ в сыворотке крови взрослых животных, находящихся на стандартном рационе вивария, показало, что она была на 50 % ниже по сравнению с молодыми животными (рис. 3, 1-я группа). Можно полагать, что возрастзависимое снижение активности АЛТ не отражает возрастную инволюцию тканей и, в частности, печени, (тогда можно было бы ожидать увеличение активности этого фермента с возрастом), а является результатом адаптивных процессов организма в онтогенезе.

Оказалось, что у молодых животных после введения сернокислой меди, напротив, активность АЛТ уменьшалась на 29 % по сравнению с ее значением в контрольной группе, а у взрослых — увеличивалась на 35 %, при этом возрастные различия, как и в случае Г-6-Фазы, полностью устранились (см. рис. 3, 2-я группа).

Такой разнонаправленный характер ответа у молодых и взрослых животных на одинаковое воздействие (сернокислая медь) может объясняться тем, что ответная реакция определялась различием в исходном состоянии активности АЛТ у молодых и взрослых животных.

Для объяснения возможных механизмов этого явления можно предположить, что спустя 15 дней после последнего введения сернокислой меди «воспалительный» процесс у молодых животных завершился и активность АЛТ снизилась, вероятно, с дальнейшим восстановлением до исходного или близкого к нему уровня. У взрослых же животных за эти 15 дней еще не завершился восстановитель-

ный процесс и поэтому активность АЛТ оставалась выше контрольного (базового) уровня.

Однако можно предположить и то, что в адаптации к сернокислой меди молодые и взрослые животные используют разные метаболические варианты (разные стратегии адаптации), и это отражается в разном относительном изменении активности АЛТ. Независимо от механизмов и особенностей, обеспечивающих возрастзависимые различия в формировании ответных реакций на исследуемые воздействия, можно утверждать, что: 1) изменения активности АЛТ в ответ на действие сернокислой меди спустя 30 дней после последнего ее введения разнонаправлены и приводят к выравниванию этого показателя у молодых и взрослых животных; 2) существующие возрастзависимые изменения активности АЛТ устраняются действием экспериментальных факторов. В этом смысле мы имеем достаточно большое сходство в реакциях на действие сернокислой меди на активность Г-6-Фазы и АЛТ.

В следующей серии экспериментов определяли активность АЛТ в сыворотке животных, получавших 30 дней комбикорм через день. Было обнаружено, что у 3-месячных животных активность АЛТ была ниже, чем в контрольной группе, на 36 %, а у взрослых — выше на 64 %. Необходимо отметить, что в этом случае активность АЛТ у взрослых животных была достоверно выше, чем у молодых (см. рис. 3, 3-я группа).

Следовательно, перевод животных на диету, приводящую к задержке роста, у молодых сопровождался уменьшением активности сывороточной АЛТ, а у взрослых потеря массы тела — увеличением активности этого фермента, что совпадало с направленностью ответной реакции и на введение животным сернокислой меди.

В том случае, когда животным вводили сернокислую медь и спустя 15 дней их переводили на кормление через день, активность АЛТ у молодых и взрослых животных уменьшалась на 17 % по сравнению с животными, получившими только сернокислую медь (см. рис. 3, 4-я и 2-я группы).

Следовательно, сформировавшаяся «метаболическая память» по активности АЛТ после многократных введений сернокислой меди существенно не изменялась по этому показателю в ответ на кормление животных через день.

Можно ожидать, что если высказанные положения верны, то они должны сохраняться и в случае изменения активности АСТ на исследуемые воздействия.

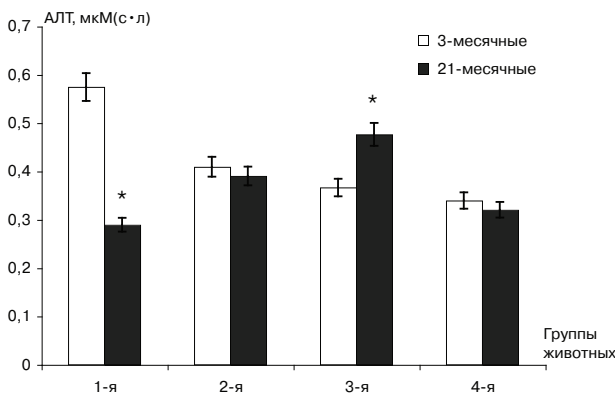


Рис. 3. Активность АЛТ (мкМ (с.л)) 3- и 21-месячных крыс

Активность АСТ

Активность АСТ у взрослых животных контрольной группы также была ниже по сравнению с молодыми, хотя и менее выражена, чем в случае АЛТ (рис. 4, 1-я группа). Трехкратное введение животным сернокислой меди не оказывало достоверного влияния на активность АСТ у молодых и взрослых животных, при этом возрастные различия сохранялись, как и в контрольной группе (см. рис. 4, 2-я группа).

Перевод животных на кормление через день сопровождался уменьшением активности АСТ у молодых на 16 %, по сравнению с контрольной группой, и на 25 % у взрослых, при этом возрастные различия сохранялись (см. рис. 4, 3-я группа).

Следовательно, введение экспериментальным животным сернокислой меди не влияло или незначительно увеличивало активность АСТ у взрослых животных, а кормление животных через день сопровождалось достоверным уменьшением активности этого фермента как у молодых, так и у взрослых животных.

В том случае, когда животным вводили трижды сернокислую медь и спустя 15 дней переводили на кормление через день, активность АСТ у них через 30 дней оставалась точно такой же, как и в случае влияния только сернокислой меди, то есть кормление через день, которое оказывало достоверное влияние на активность АСТ, не влияло на этот показатель, как и в случае с АЛТ, но не Г-6-Фазы (см. рис. 4, 2-я и 4-я группы).

Следовательно, сформировавшаяся метаболическая активность АСТ на фоне действия сернокислой меди оставалась неизменной после перевода животных на кормление через день, то есть первичная адаптация для данного фермента «запоминалась» и сохранялась даже после второго стресс-воздействия.

Фосфорилирующая активность митохондрий

О функциональной активности митохондрий судили по интенсивности дыхания в фосфорилирующем состоянии (V_3 по Чансу) у исследуемых групп животных. У 21-месячных животных V_3 было несколько ниже (на 17 %) по сравнению с 3-месячными крысами (рис. 5, 1-я группа). На фоне введения сернокислой меди V_3 не изменялось у 3-месячных животных и уменьшалось, по сравнению с контрольным уровнем, у 21-месячных крыс на 18 % (см. рис. 5, 2-я группа). Следовательно, развитие гепатита, индуцированного многократным введением сернокислой меди, не угнетало

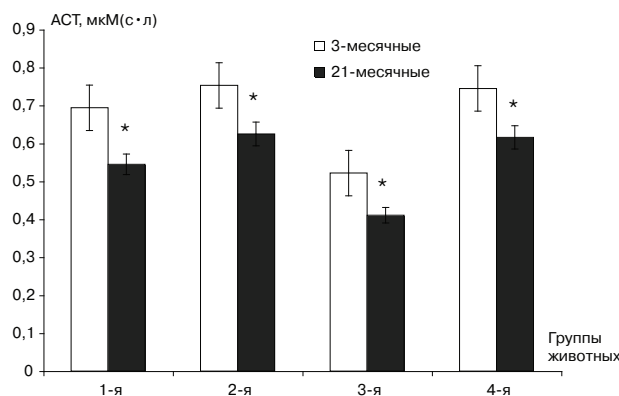


Рис. 4. Активность АСТ (мкМ (с.л.)) 3- и 21-месячных крыс

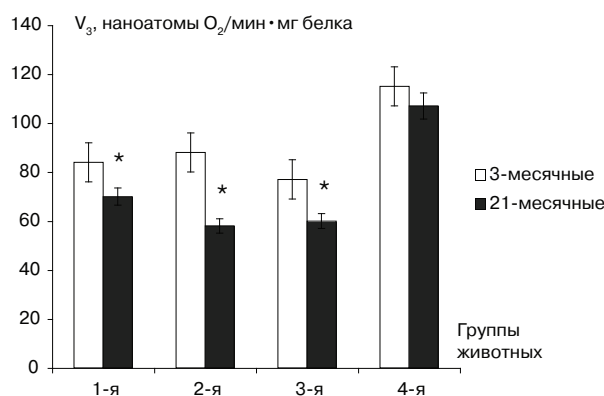


Рис. 5. Фосфорилирующая активность V_3 митохондрий 3- и 21-месячных крыс

дыхательную активность митохондрий у молодых животных, угнетало этот показатель у взрослых и тем самым увеличивало возрастные различия с 17 до 34 % (см. рис. 5, 1-я и 2-я группы).

В случае, если животные находились 30 дней на кормлении через день, дыхательная активность митохондрий уменьшалась в одинаковой степени у молодых и взрослых животных, по сравнению с исходным уровнем (см. рис. 5, 1-я и 3-я группы).

Если же у животных индуцировали гепатит сернокислой медью, а после этого их переводили на кормление через день на 30 дней, дыхание митохондрий увеличивалось у молодых животных, по сравнению с кормлением через день (без преадаптации к меди) на 49 %, а у взрослых — на 53 %, и между собой они достоверно не различались (см. рис. 5, 4-я группа). В интенсивности дыхания митохондрий повторялся эффект «супериндукции», как и в случае с активностью Г-6-Фазы.

О мере сопряженности митохондрий судили по дыхательному контролю по Чансу (ДК_Ч).

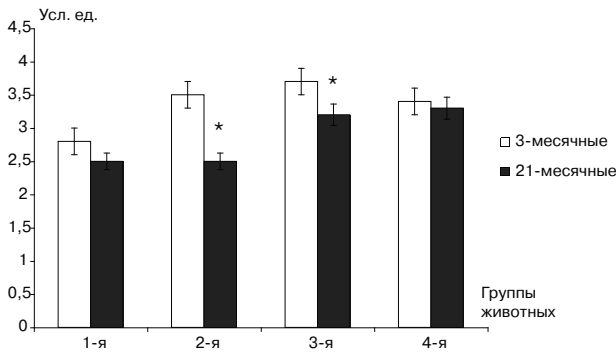


Рис. 6. Дыхательный контроль по Чансу (ДК_q) митохондрий 3- и 21-месячных крыс

Молодые и взрослые животные контрольных групп не различались между собой по этому показателю (рис. 6, 1-я группа). На фоне гепатита ДК_q увеличивался у молодых животных и оставался на уровне контрольной группы у взрослых (см. рис. 6, 2-я группа). В том же случае, если животные на протяжении 30 дней получали корм через день, то ДК_q достоверно увеличивался по сравнению с контрольными группами как молодых, так и взрослых животных (см. рис. 6, 1-я и 3-я группы).

Если предварительно животные были адаптированы к сернокислой меди, а потом переводились на кормление через день, то ДК_q оставался на том же высоком уровне, как и в случае кормления через день, и этот показатель был одинаковым у молодых и взрослых животных (см. рис. 6, 4-я группа).

Обсуждение

Большая часть проводимых исследований по влиянию факторов среды на животных разного возраста посвящена оценке ответа на краткосрочное однократное воздействие, что, скорее, позволяет судить о чувствительности и резистентности организма к этим воздействиям, а не об их способности к адаптации. Строгих экспериментальных доказательств снижения с возрастом адаптивных способностей нет. Для решения этого принципиально важного вопроса геронтологии необходима оценка ответной реакции разных метаболических систем на многократные последовательные и комбинированные воздействия на животных разного возраста в длительных экспериментах. Только такие экспериментальные подходы позволяют выявить стойкие, длительные изменения и оценить возможности сохранения этих адапционно-индуцированных изменений после повторных или комбинированных влияний факторов среды на организм.

Результаты настоящей работы могут быть сведены к нескольким положениям.

1. Взрослые животные не уступают молодым животным по способности к индукции активности исследованных ферментов — Г-6-Фазы, АЛТ и окислительного фосфорилирования, которое индуцировалось длительным влиянием сернокислой меди и голоданием.

Так, активность Г-6-Фазы увеличивалась до одинакового уровня у молодых и взрослых животных при кормлении через день, и в еще большей степени это проявлялось, если животные получали многократно сернокислую медь и затем переводились на кормление через день (см. рис. 1). Более того, эффект индуцированного увеличения активности ферментов у взрослых был выше, чем у молодых, так как их контрольный уровень в ряде случаев был ниже, по сравнению с уровнем у молодых животных (см. рис. 1). В пользу этого положения свидетельствуют и данные по увеличению активности АЛТ у взрослых животных после действия сернокислой меди и голодания (см. рис. 3), по увеличению интенсивности дыхания в фосфорилирующем состоянии (V_3 по Чансу) у взрослых животных при комбинированном воздействии сернокислой меди и голодания (см. рис. 5). Следовательно, эти результаты не позволяют утверждать, что с возрастом происходит снижение способности к адаптации к факторам среды, а скорее, с возрастом меняется стратегия адаптации и, как результат, увеличивается вероятность проявления крайних метаболических вариантов, которые мы относим к патологическим состояниям.

2. Существующие возрастные различия в активности Г-6-Фазы, АЛТ и V_3 контрольных групп молодых и взрослых животных могут устраняться после длительного влияния таких стресс-факторов, как сернокислая медь и голодание.

Необходимо отметить, что небольшие возрастные различия в интенсивности дыхания митохондрий печени в фосфорилирующем состоянии увеличивались после последовательных введений сернокислой меди и голодания, однако комбинированные действия этих двух факторов вызывали усиление интенсивности дыхания митохондрий как у молодых, так и у взрослых животных с устранением исходных различий (см. рис. 5). Эти результаты доказывают, что взрослые животные не теряют способности к индуцируемости этого показателя, однако в ряде случаев адаптация может проходить и без увеличения интенсивности V_3 или же активности АСТ (см. рис. 4).

3. Ответная реакция организма на последовательные многократные влияния как однотипных, так и разных факторов среды зависит не от возраста как такового, а от «накопленной» данным организмом в процессе непрерывной адаптации метаболической или, что шире, эпигенетической памяти. В таком случае онтогенез может быть представлен как результат адаптиогенеза.

Метаболическая память, которая сформировалась на некое условно первичное адаптивное влияние, может приводить к сохранению характера ответа метаболической системы на новое вторичное влияние. Так, в наиболее яркой форме это проявилось для АСТ в случае комбинированного влияния стресс-факторов (см. рис. 4). Предварительное влияние серноокислой меди незначительно изменяло активность АСТ у молодых и взрослых животных по сравнению с этим показателем в контрольных группах животных. Голодание сопровождалось значительным достоверным снижением активности АСТ как у молодых, так и у взрослых животных. В случае же последовательного первичного и вторичного воздействия сохранялся (доминировал) характер первичного ответа, то есть проявлялась уже сформировавшаяся память (см. рис. 4).

На процесс формирования метаболической памяти могут указывать и случаи проявления некоего нового «парадоксального» стимулирующего ответа на последовательное влияние разных адаптивных факторов, как в случае с активностью Г-6-Фазы (см. рис. 1), и дыханием митохондрий в фосфорилирующем состоянии (см. рис. 5). В этих случаях проявлялась «суперактивность», превышающая как контрольные уровни, так и уровни активности каждого из стресс-факторов.

Можно полагать, что механизм такой «суперактивации» лежит в основе явления гормезиса. Под гормезисом понимают относительное увеличение индивидуальной сопротивляемости организма большему стрессу в результате предварительного стимула. В качестве примера можно провести эксперименты А. И. Яшина и соавт. по увеличению продолжительности жизни на 10% *Caenorhabditis elegans* после непродолжительного хит-шока в начале жизни [23]. Проявление эффекта гормезиса было показано и в нашей лаборатории на модели формирования устойчивости животных к токсическим концентрациям ионов меди [8]. Вместе с тем, механизмы, обеспечивающие эти эффекты, остаются неясными. Можно полагать, что в их основе лежит формирование метаболической памяти.

Не менее интересен и случай «парадоксально-го» ингибирующего влияния на повторное воздействие, как в случае с АЛТ (см. рис. 3).

Однако во всех случаях первичное воздействие сохраняется или же модифицирует ответ на последующие адаптивные воздействия, а так как взрослые животные претерпели большие влияния последовательных стресс-факторов среды, чем молодые, то ответ их метаболической системы на исследуемые нами экспериментальные влияния будет отличаться от такового у молодых животных, то есть будет проявляться метаболическая память.

Под метаболической памятью мы понимаем формирование в процессе адаптации стойких (то есть доминирующих в данных условиях) альтернативных вариантов метаболических циклов, обеспечивающих адекватный ответ системы на факторы среды. Наиболее близкой к понятию метаболической памяти является эпигенетическая память, или наследование. Под эпигенетическим наследованием понимают наследуемые в ряду клеточных поколений изменения, не затрагивающие первичную нуклеотидную последовательность ДНК, то есть сохранение паттерна экспрессирующих генов [10]. Наиболее изученным эпигенетическим показателем является метилирование ДНК и модификация гистонов [20].

Примерами запрограммированно наследуемых эпигенетических состояний является импринтинг у млекопитающих и наследование структуры хроматина *max 2/max 3* локуса *S. Pombe*, суть которого сводится к установлению определенного паттерна эпигенетических модификаций генов в половых клетках родителей, который затем наследуется [21]. Однако механизмы эпигенетического наследования остаются малоизученными и самыми важными, пожалуй, в исследовании эпигенома.

В этом отношении следует обратить внимание на формирование метаболического паттерна в процессе адаптации и закономерностей его сохранения, что, вероятно, позволит понять и проявление эпигенетической памяти.

Литература

1. Анисимов В. Н. Старение и канцерогенез // Успехи геронтол. 2002. Вып. 10. С. 99–125.
2. Божков А. И. Три дозозависимые стадии действия ионов меди на функциональную активность биологических систем // Биохимия. 1997. Т. 60. № 2. С. 176–186.
3. Божков А. И. Низкокалорийная диета как модель увеличения продолжительности жизни и исследования механизмов старения // Успехи геронтол. 2001. Вып. 8. С. 89–99.
4. Божков А. И. Эпигенетические механизмы старения // Проблемы старения и долголетия (приложение). IV

- Национальный конгресс геронтологов і геріатрів України. 2005. Т. 4. Тези доповідей, Київ, 11–13 жовтня 2005. С. 9.
5. Божков А. И., Малеев В. А. Снижается ли способность печени к регенерации с возрастом? Динамика функциональной активности митохондрий в процессе регенерации печени // Успехи геронтол. 2004. Вып. 13. С. 58–65.
6. Божков А. И., Климова Е. М., Вотякова И. А., Дроздова Л. А. Клеточная биология и медицинская практика // Трансплантология. 2005. Т. 8. № 3. С. 96–99.
7. Божков А. И., Климова Е. М., Дмитриев Ю. В., Длубовская В. Л. Реакция иммунной системы крыс разного возраста на сдерживающие рост диеты // Проблемы старения и долголетия. 2006. Т. 15. №2. С. 93–103.
8. Божков А. И., Длубовская В. Л., Линник М. А. и др. Возрастные особенности адаптации животных к сернокислой меди // Доповіді НАН України. 1998. № 5. С. 153–157.
9. Божков А. И., Длубовская В. Л., Малеев В. А. и др. Сдерживающая рост диета вызывает разные стратегии адаптации организма молодых и взрослых животных // Успехи геронтол. 2006. Вып. 19. С. 36–43.
10. Божков А. И., Колотова Т. Ю., Волянский Ю. Л. и др. Эпигенетический контроль, эпигенетическое наследование и перестройки генома // В кн.: Нестабильность генома и эпигенетическое наследование эукариот. Харьков: Око, 2007.
11. Лю Б. Н. Митохондрии кислородно-перекисный механизм старения // Успехи соврем. биол. 2002. Т. 122. № 4. С. 376–389.
12. Мечников И. И. Этюды оптимизма. М.: Наука, 1964.
13. Оловников А. М. Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии // Биохимия. 2003. Т. 68. Вып. 1. С. 7–41.
14. Репин В. С. Трансплантация клеток: новая реальность в медицине // Бул. експер. биол. 1998. Т. 126 (Прилож. 1). С. 14–28.
15. 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.
16. Anisimov V. N., Alimova I. N., Baturin D. A. et al. The effect of melatonin treatment regimen on mammary adenocarcinoma development in HER-2/neu transgenic mice // Int. J. Cancer. 2003. Vol. 103. P. 300–305.
17. Arion W. J., Schulz L. O., Lange A. J. et al. The characteristics of liver glucose-6-phosphatase in the envelope of isolated nuclei and microsomes are identical // J. biol. Chem. 1983. Vol. 258. № 20. P. 12661–12669.
18. Harman D. H. Extending functional life span // Exp. Gerontol. 1998. Vol. 33. P. 95–112.
19. Hayflick L. How and why we age // Exp. Gerontol. 1998. Vol. 33. P. 639–653.
20. Martens J., Verlaan M., Kalkhoven E., Zantema A. Cascade of distinct histone modification during collagenase gene activation // Molec. cell. Biol. Vol. 23. P. 1808–1816.
21. Rakyán V., Preis J., Morgan H., Whitelaw E. The marks, mechanisms and memory of epigenetic states in mammals // Biochem. J. 2001. Vol. 356. P. 1–10.
22. Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // Amer. J. clin. Path. 1957. Vol. 28. P. 56–63.
23. Yashin A. I., Cypser 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. Geront. A Biol. Sci. Med. Sci. 2002. 57(3): B83–B92.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 259–268

A. I. Bozhkov, V. L. Dlubovskaya, Yu. V. Dmitriev, N. I. Meshaikina, V. A. Maleev,
E. M. Klimova

SUPPOSED ROLE OF «METABOLIC MEMORY» IN FORMATION OF RESPONSE REACTION TO STRESS-FACTORS IN YOUNG AND ADULT ORGANISMS

V. N. Karazin Research Institute of Biology of Kharkov National University, 4 pl. Svobody, Kharkov 61077, Ukraine;
e-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

The influence of the combined long-lasting influences of sulfur sulfate and diet restriction in young (3 month age) and adult (21 month age) Vistar rats on activity of glucose-6-phosphatase, alaninaminotransferase (ALT), aspartataminotransferase (AST), and on phosphorylating activity of liver mitochondria was studied to investigate the role of metabolic memory on the peculiarities of response reaction. The young animals not differed from adult ones in the possibility of inducing activity of glucose-6-phosphatase, ALT, and on phosphorylating activity after the influence of sulfur sulfate and diet restriction. The age-related differences in glucose-6-phosphatase and transphosphatases and phosphorylating activity existing in control disappeared after the long-lasting action of sulfur sulfate and diet restriction. The answer reaction in enzyme activity to stress factors applied many times depends upon the metabolic memory formed in the process of adaptation, and the age of animals have no influence on it. In some relation the ontogenesis may be considered as a result of adaptation genesis. The metabolic memory can change the answer of the system to the stress influence. There are three types of modification of the answer to stress factors: the answer remains unchanged (metabolic memory), «paradox answer» formation, and super activation of the metabolic system.

Key words: age, metabolic memory, adaptation genesis, enzyme activity

Л. М. Берштейн

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ РАКА ГОРМОНАЛЬНО-ЗАВИСИМЫХ ТКАНЕЙ И ДРУГИХ ОСНОВНЫХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ВОЗРАСТНОЙ АСПЕКТ

НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова, 197758 Санкт-Петербург, Песочный-2, ул. Ленинградская, 68;
e-mail: levmb@endocrin.spb.ru

Когда речь идет об основных неинфекционных заболеваниях (ОНЗ), под этим понимают, в первую очередь, сердечно-сосудистую (ишемическая болезнь сердца, гипертония) и цереброваскулярную (инсульт) патологию, злокачественные опухоли, хронические неспецифические респираторные (легочные) заболевания и сахарный диабет, приписывая им, соответственно, 25–30, 13, 7 и 2 % летальности, регистрируемой в начале XXI в. мировой статистикой [91]. Если брать за основу не показатели смертности [29], а суть дела, то к группе ОНЗ следует причислить также остеопороз, униполярную депрессию и ожирение [36]. По данным отечественной онкологической статистики [15, 16, 21] и американской системы учета [80], суммарная заболеваемость новообразованиями гормонально-зависимых тканей составляет примерно 35–45 % от всей заболеваемости раком. В течение последних десятилетий, характеризовавшихся заметными демографическими изменениями, все более отчетливо звучат прогнозы о дальнейшем росте доли основных неинфекционных болезней, включая рак [65, 71]. Попытка понять место гормонально-зависимых злокачественных опухолей среди других ОНЗ человека и проанализировать их взаимоотношения с последними в возрастном аспекте представляет собой насущную задачу современной онкоэндокринологии. Хотя основные хронические заболевания человека выявляются, по большей части, во второй половине жизни, формирование их гормонально-метаболической базы начинается за много десятилетий до появления признаков подобных патологических процессов и демонстрирует при этом не всегда однозначный характер ассоциаций с отдельными составляющими данной группы заболеваний. Это может быть поводом к отсутствию параллелизма в частоте последних, в особенности на заключительном этапе онтогенеза.

Ключевые слова: возраст, старение, основные неинфекционные заболевания, рак гормонально-зависимых тканей

Принято считать, что возраст человека является решающим фактором, который определяет вероятность заболевания злокачественными новообразованиями [1, 10, 17, 24], и такое мнение находит приверженцев уже на протяжении многих десятилетий [25]. Роль возрастного фактора трактуется как с точки зрения многостадийной концепции канцерогенеза [25], так и с других, нередко противоположных позиций [10, 24, 31, 38, 49, 88]. В данном отношении представляется важным выделять в слове «возраст» несколько его аспектов (необязательно связанных только со старением [3]) и проанализировать с учетом этого обстоятельства, несмотря на определенный дефицит имеющихся сведений, те особенности заболеваемости раком гормонально-зависимых тканей и основными неинфекционными заболеваниями (ОНЗ) и смертности от них, которые относятся к разряду возрастспецифических (age-specific).

Демографический переход, характерный, в первую очередь, для стран с развитой экономикой и со средним уровнем доходов, проявляется увеличением доли людей 60 лет и старше. Это увеличение

Таблица 1

Сведения о злокачественных новообразованиях, которыми в мире в 2000 г. заболело более 0,5 млн человек [16]

Локализация опухоли	Количество заболевших в 2000 г.	Количество умерших в 2000 г.
Легкое	1 239 000 (12,3 %)	1 103 000 (17,8 %)
Молочная железа	1 050 000 (10,4 %)	373 000 (6,0 %)
Толстая кишка	945 000 (9,4 %)	492 000 (7,9 %)
Желудок	876 000 (8,7 %)	647 000 (10,4 %)
Печень	564 000 (5,6 %)	549 000 (8,8 %)
Предстательная железа	543 000 (5,4 %)	204 000 (3,3 %)

Примечание. В процентах представлена доля от общего количества заболевших раком всех локализаций или умерших от него; курсивом выделены новообразования, отнесенные к группе «рак гормонально-зависимых тканей»

Повозрастные показатели заболеваемости раком в Санкт-Петербурге (стандартизация на 100 000 чел. [15, 16])

Рак	Пол	Возраст, годы					
		15–19	30–34	45–49	60–64	75–79	80–84
легкого	М	0,6	0,6	47,9	278,3	415,6	321,2
	Ж	–	0,6	3,3	22,5	74,0	90,9
<i>молочной железы</i>	Ж	–	15,0	121,3	179,4	223,1	220,1
<i>ободочной кишки</i>	М	–	1,7	11,7	84,3	258,8	271,2
	Ж	–	1,9	14,8	76,5	179,9	212,0
желудка	М	1,2	1,1	31,3	134,1	317,1	471,1
	Ж	–	5,6	18,1	55,7	180,9	266,5
печени	М	–	–	4,9	12,6	36,5	7,1
	Ж	–	–	1,9	3,9	27,8	12,1
<i>предстательной железы</i>	М	–	–	1,8	49,8	262,5	257,0

Примечание. Курсив — см. примеч. к табл. 1

обеспечивают процессы, происходящие как «снизу» (за счет снижения рождаемости и уменьшения числа детей), так и «сверху» (за счет роста числа старых людей и средней продолжительности жизни) [17, 19, 90]. Данное явление (с определенными поправками на причины мужской сверхсмертности, не связанные с «естественной» заболеваемостью и убылью населения) присуще и России [7, 8].

По мнению многих экспертов, по мере увеличения доли пожилых людей будет возрастать и частота хронических неинфекционных болезней. Анализируя применительно к такому заключению сведения о заболеваемости злокачественными новообразованиями, следует отметить, что на рубеже XX и XXI вв. в мире больше всего людей заболело раком легкого и молочной железы, а скончалось — от рака легкого и рака желудка (табл. 1). При этом, и по данным Санкт-Петербургского популяционного канцер-регистра (табл. 2), и по материалам, поставляемым SEER ([80], табл. 3), повозрастные показатели заболеваемости злокачественными опухолями, упоминаемые в табл. 1, подтверждают тот известный факт, что доля больных раком (в том числе, раком гормонально-зависимых тканей, к которому следует относить рак молочной и предстательной желез, эндометрия, толстой кишки и некоторые другие новообразования [4]) среди лиц старше 60 лет весьма существенно превосходит величину этого показателя у более молодых людей.

Анализ тех же таблиц (при всем том, что они являются лишь примерами, характеризующими ситуацию в целом) позволяет обратить внимание, по крайней мере, на два момента. Речь идет, во-

первых, о том, что, начиная с 45–49-летнего возраста, после предшествовавшего быстрого подъема абсолютный и относительный (в процентах) прирост заболеваемости раком молочной железы является заметно менее выраженным, чем в случае других представленных локализаций, и, во-вторых, после 80 и особенно 85 лет нередко отмечается уменьшение доли людей, заболевающих раком (см. табл. 3).

Говоря о первой из этих особенностей, следует отметить, что замедление скорости прироста заболеваемости в возрасте 50 лет и старше характерно не только для рака молочной железы, но и для рака эндометрия, а по некоторым данным, и для рака яичников [4]. Очевидно, таким образом проявляется ослабление, начиная с определенного периода, гормональной стимуляции тканей-мишеней, что и приводит к уменьшению наклона кривой приращения числа заболеваний. В то же время, ассоциированное с возрастом снижение продукции гормона-стимулятора (в данном случае, скорее всего, эстрогенов) могло бы, в соответствии с некоторыми закономерностями эндокринной регуляции, постепенно формировать состояние повышенной чувствительности к гормональному сигналу, или «адаптивной гиперчувствительности», подобно тому, как это имеет место в условиях экспериментальной эстрогенной депривации [82]. С другой стороны, не только в исследованиях типа «случай—контроль», но и в проспективных наблюдениях концентрация эстрогенов в крови женщин постменопаузального возраста, у которых через несколько лет после обследования выявляется рак молочной железы, демонстрирует тенденцию к повышению

Заболеваемость раком в США по данным SEER (стандартизация на 100 000 чел. [80])

Рак	Пол	Возраст, годы							
		30–34	45–49	50–54	55–59	60–64	75–79	80–84	85+
легкого	М	1,1	26,7	58,5 (219)	117,2 (439)	217,5 (812)	559,9 (2070)	554,0 (2052)	448,1 (1659)
	Ж	1,2	24,2	44,8 (185)	88,4 (366)	155,1 (646)	344,2 (1430)	317,5 (1320)	224,4 (933)
молочной железы	Ж	26,1	185,3	234,4 (126)	299,7 (162)	359,9 (195)	453,1 (245)	435,9 (236)	352,8 (191)
ободочной кишки	М	2,5	17,4	36,2 (208)	57,7 (341)	93,8 (553)	267,8 (1577)	322,6 (1900)	348,0 (2047)
	Ж	2,5	16,6	30,4 (183)	44,0 (275)	69,0 (431)	206,8 (1293)	266,3 (1662)	303,3 (1893)
предстательной железы	М	–	40,2	136,4 (339)	328,2 (820)	573,9 (1435)	970,8 (2427)	816,3 (2040)	676,3 (1690)

Примечание. В скобках — данные в процентах, где за 100% принято значение, свойственное группе больных 45–49 лет

или достоверно более высока, чем у женщин, у которых в течение того же периода времени опухоль не обнаруживается ([40]; табл. 4). Тем не менее, то обстоятельство, что после наступления менопаузы все же отмечается заметное снижение динамики частоты эстрогензависимых злокачественных опухолей с возрастом, свидетельствует о «перекрывающей» приведенные аргументы роли возрастного дефицита эстрогенов, обусловленного, прежде всего, постепенным ослаблением процесса стероидогенеза в яичниках [78].

О второй отмеченной особенности (все чаще регистрируемом международной статистикой снижении онкологической заболеваемости у лиц старше 80–85 лет [49, 97] и о феномене, обозначаемом как «децелерация, или поворот в частоте опухолей» [77]) будем говорить ниже, в том числе в разделе, посвященном долгожителям. Это сни-

жение, отчасти, объясняет, почему по сравнению с другими ОНЗ (в первую очередь, патологией сердечно-сосудистой системы) влияние новообразований на укорочение продолжительности жизни относительно невелико и не превышает нескольких месяцев — 3 лет [17, 97].

Как в свете сказанного выше выглядит *повозрастная динамика частоты выявления некоторых основных хронических заболеваний, помимо рака*, и как она выглядит в сопоставлении с заболеваемостью опухолями гормонально-зависимых тканей? Следует подчеркнуть, что анализ данного вопроса затруднен рядом обстоятельств, в числе которых относительно небольшое число надежных публикаций и регистров, вынужденно ограниченный охват разных аспектов проблемы даже в таких широкоизвестных исследованиях, как Baltimore Longitudinal Study of Aging и Framingham Heart

Уровень эстрадиола в крови как фактор риска развития рака молочной железы в менопаузе [40]

Тип исследования	Авторы	Число случаев (и контролей)	Оценка	RR (95% CI)
Случай–контроль	Zeleniuch-Jacquotte, 2004	663 (1765)	Квинтили	2,0 (1,5–2,7)
	Kaaks, 2005	677 (1309)	Квинтили	2,3 (1,6–3,2)
	Missmer, 2004	322 (643)	Квинтили	2,1 (1,5–3,2)
	Manjer, 2003	173 (438)	Квинтили	1,7 (0,7–1,7)
Проспективное	Cauley, 1999	9704	Квартили	2,9 (1,4–2,9)
	Hankinson, 1998	11191	Квартили	1,9 (1,1–2,5)
	Dorgan, 1997	3375	Квартили	2,7 (1,5–3,0)
	Toniolo, 1995	7063	Квартили	1,8 (1,1–2,7)

Примечание. RR, CI — относительный риск развития заболевания и доверительные интервалы (для групп «верхние» квинтили/квартили против «нижних»)

Таблица 5

Возрастспецифическая смертность от ишемической болезни сердца в США (1991–1995 гг.) [70]

Возраст, годы	Показатель смертности, оба пола
35–44	15,7
45–54	68,3
55–64	220,6
65–74	572,0
75–84	1476,1
85+	4360,7

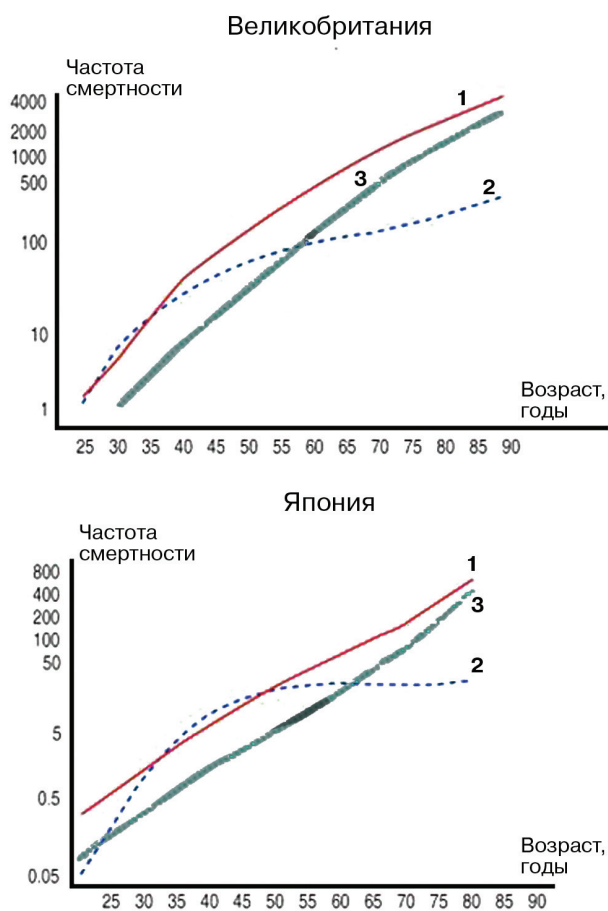
Study, а также тот факт, что в силу целого ряда причин чаще приходится ориентироваться на сведения не о заболеваемости, а о смертности. И в том, и в другом случае есть дополнительные очевидные недостатки (например, уровень заболеваемости нередко зависит от уровня обращаемости, а такой показатель, как смертность, в определенной степени

зависит от эффективности современного лечения), однако с ними приходится «соглашаться» для того, чтобы попытаться увидеть проблему *in toto*.

Наиболее доступными и чаще публикуемыми (несомненно, из-за их очевидной важности) являются материалы по *сердечно-сосудистой* заболеваемости и связанной с ней летальностью. Не уделяя здесь внимания важной роли этнических факторов, не менее существенным половым различиям, а также достижениям медицины, которые в некоторых развитых странах приводят к уменьшению темпов прироста поражений сердечно-сосудистой системы, отметим, что, по почти единодушным данным, с возрастом, начиная с 3–4-го десятилетия жизни, частота ишемической болезни сердца (как одного из флагманов этой патологии) нарастает, по сути, экспоненциально ([60, 70]; табл. 5, рис. 1), чего, как уже отмечалось, не наблюдается с определенного момента в отношении злокачественных новообразований, в частности рака молочной железы.

Какие бы объяснения этим различиям не давались (изменение продукции эстрогенов, особенности влияния образа жизни и динамики клеточного метаболизма, компенсационные и конкурентные эффекты и другое — см. далее), очевидно, что следствием могут быть сдвиги в структуре заболеваемости/смертности. На самом деле, как наблюдается в начале настоящего столетия и как прогнозируется к 2050 г., на фоне постарения населения будет еще более заметным увеличение отношения между смертностью от сердечно-сосудистой патологии и злокачественных опухолей [84]. В частности, применительно к США отмечается, что в середине XXI в., по расчетным данным, уже 47 % всех случаев смерти (в отличие от 25 % в настоящее время) будут фиксировать у людей старше 85 лет. При этом, доля сердечно-сосудистой патологии (А), как причины смертности, увеличится с 29 до 33 %, доля злокачественных новообразований (Б) в том же качестве снизится с 23 до 20 %, а условное отношение А/Б вырастет от 1,30 до 1,65, то есть на 27 % ([84]; рис. 2).

Чем все же объяснить этот нарастающий перевес «в пользу» сердечно-сосудистых заболеваний? Несомненно, он вызван причинами разной природы, включая последствия постепенного изменения продолжительности жизни и скорости старения населения развитых стран [24, 96, 97]. В индивидуальном плане не приходится сомневаться в том, что к числу значимых модификаторов сердечно-сосудистой заболеваемости и, в итоге, общей смертности должны быть отнесены такие параметры, как



Ишемическая болезнь сердца: мужчины — 1, женщины — 2; 3 — рак молочной железы

Рис. 1. Частота смертности на 100 000 чел. от ишемической болезни сердца и рака молочной железы (Великобритания и Япония, 1993–1998 гг.) [60]

уровень физической активности, выносливость/адекватность состояния сердечно-легочной системы, исходная (при проспективных исследованиях) величина артериального давления, курение и масса тела [2, 8, 86]. Особенно высока — минимум в 2–4 раза выше популяционной — частота сердечно-сосудистой патологии у больных явным сахарным диабетом, причем зависимость от возраста в ее распространенности сохраняется при этом со всей очевидностью ([9, 37]; табл. 6). Что касается заболеваемости самым сахарным диабетом II типа, то считается, что (несмотря на типичную для этого заболевания гиподиагностику) чем старше изучаемая популяция, тем чаще в ней обнаруживают признаки нарушенной толерантности к углеводам, постпрандиальной и натощак гипергликемии и тем чаще ставится этот диагноз [9, 51, 92].

По крайней мере, до 70–79 лет нарастает и частота *метаболического синдрома* (сочетаний нарушенной толерантности к глюкозе, инсулин-резистентности, избытка массы тела по висцеральному/«верхнему» типу и гиперлипидемии) [6, 13, 42, 50], при наличии признаков которого риск даже случайного выявления сахарного диабета, по данным мета-анализа, увеличивается, в среднем, в 3,5–5,5 раза [43] (о восстановлении утраченной чувствительности к инсулину или ее «нейтрале» у людей, достигших 100-летнего возраста, см. ниже). В то же время, при таком гормонально-зависимом новообразовании, как рак эндометрия, риск смерти от других видов рака ($RR\ 6,38; CI\ 5,74–7,15$) и от сахарного диабета ($RR\ 2,81; 95\% CI\ 2,19–3,70$) значимо более высок, чем риск летальности при нем же от циркуляторных заболеваний ($RR\ 1,10; 95\% CI\ 1,00–2,22$) [93], что вновь возвращает нас к своеобразным особенностям взаимоотношений между разными ОНЗ и определяющим эти особенности причинам.

Некоторому пониманию этой проблемы способствуют представляемые, в том числе в возрастном аспекте, данные по анализу множественных причин смерти, однако, прежде чем обратиться к ним, нужно хотя бы кратко в дополнение к изложенному выше рассмотреть сведения о повозрастной частоте таких значимых хронических неинфекционных процессов, как инсульт, некоторые нейродегенеративные заболевания, депрессия и остеопороз.

Распространенность *депрессии* в популяции не всегда прямо пропорциональна возрасту, а у пожилых людей подобное состояние чаще выявляют при сопутствующей патологии, включая сердечно-

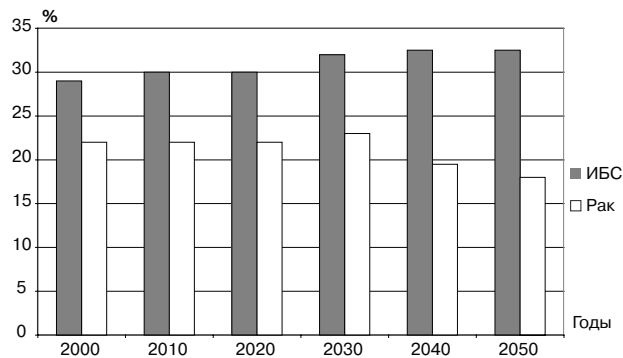


Рис. 2. Прогнозируемая динамика смертности (% ко всем случаям смерти) от сердечно-сосудистой патологии и рака в США (2000–2050 гг.) [84]

сосудистые заболевания и злокачественные новообразования [59]. В механизмах депрессии и, как следствие, в распространенности ее в исследуемых контингентах большую роль играет и генетический фактор [10, 63], чем можно частично объяснить различия в публикуемых сведениях. При такой (привлекаемой здесь в качестве примера) опухоли гормонально-зависимой ткани, как рак молочной железы, помимо понятной связи с депрессией после установления диагноза [22, 79], имеются сведения в пользу предрасполагающей роли тревоги, депрессии и в развитии заболевания, в реализации чего существенное место отводится изменениям в иммунной и нейроэндокринной системах [10, 69]. Как и в отношении целого ряда других ОНЗ (см. далее), высказывается точка зрения о важности событий, происходящих на самых ранних этапах жизни, в последующей подверженности депрессии и ассоциированных с ней симптомах; при этом принимаются во внимание замедленное внутриутробное развитие пробанда и меньшая продолжительность беременности у матери [44].

Таблица 6

Смертность (на 1000 человеко-лет) от сердечно-сосудистых заболеваний у не страдающих и страдающих диабетом женщин различного возраста [37]

Возраст, годы	Группа без сахарного диабета	Группа с сахарным диабетом
<60	0,02 (0,01–0,06)	0,63 (0,09–4,47)
60–69	0,90 (0,65–1,26)	1,71 (0,43–6,68)
70–79	2,68 (2,19–3,28)	11,83 (8,17–17,13)
≥80	12,62 (11,2–14,21)	24,47 (18,65–32,12)

Примечание. В скобках 95% доверительный интервал

Переходя к проблеме *инсультов* и их связи с возрастом, напомним, что они могут быть представлены в одном из двух вариантов — ишемическом или геморрагическом. Ишемический инсульт вызван, как правило, прогрессированием атеросклероза, а геморрагический — высоким артериальным давлением и микроаневризмами церебральных сосудов. На процесс образования микроаневризм влияют, главным образом, возраст и уровень артериального давления. Поэтому, чем выше последнее, тем больше риск геморрагического инсульта. У ишемического инсульта столь четкой связи с уровнем артериального давления нет. По многим наблюдениям, особенно тщательно выполненным на североамериканском и европейском континентах, по мере старения суммарная заболеваемость инсультом существенно увеличивается (например, в Швейцарии от 17 на 100 тыс. населения в возрастной группе до 44 лет до 1034 в возрасте 85+ лет [47]). Тем не менее, она варьирует от страны к стране и в зависимости от ряда других факторов, кроме упомянутых выше [47, 62]. В частности, при диабете частота развития инсультов более высока (до 2–5 раз), по сравнению с людьми, не страдающими диабетом. Кроме того, при этом сохраняется резкое нарастание заболеваемости при движении «по маршруту» от 35–44 до 85+ лет, однако в возрасте 45–64 года, по данным одного из исследований, отношение частоты инсультов у диабетиков, по сравнению с недиабетиками, оказалось даже выше, чем у лиц 65 лет и старше [57].

Что касается связей между частотой церебральных кровоизлияний и злокачественных новообразований гормонально-зависимых тканей, то этот вопрос обсуждается, в том числе, из-за применения пероральных стероидных контрацептивов и гормонзаместительной терапии в менопаузе (например, [67]), причем уменьшение при этом числа инсультов рассматривается как результат использования именно эстрогенсодержащего компонента данной группы препаратов. В пользу подобного заключения приводится и такой довод, что, помимо влияния на коронарный кровоток [12], эстрогены способны существенно усиливать ток крови через внутреннюю сонную артерию [58]. Влияние эстрогенов на деятельность центральной нервной системы далеко выходит за рамки обеспечения только половой функции; наиболее важным представляется «сберегающий» эффект, препятствующий развитию так называемых *нейродегенеративных заболеваний* [14, 20, 66].

К числу таких процессов относится, в частности, болезнь Паркинсона, а также болезнь Альцгеймера, проявляющаяся резким снижением интеллектуального уровня и когнитивной (познавательной) функции и учащающаяся (как и некоторые другие формы деменции) при старении, по крайней мере до определенного возраста [30]. При этой болезни, по одним сведениям, концентрация как эстрадиола, так и эстрогена в крови уступает таковой у здоровых постменопаузальных женщин, а по другим — заметных отличий ни по концентрации эстрадиола, ни андрогенов (андростендиона или тестостерона) не наблюдается. В то же время выявляются определенные закономерности, связывающие частоту распространения болезни Альцгеймера в популяции с предшествующим приемом эстрогенов: эстрогенсодержащая терапия в менопаузе — в противоположность ее известному влиянию на частоту некоторых новообразований репродуктивной системы, — будучи своевременно начатой, может оказывать в этом отношении протективное действие [83].

Существенно, что снижению результатов нейропсихологического/когнитивного тестирования и повышению вероятности развития болезни Альцгеймера способствуют (помимо дефицита эстрогенов) гиперинсулинемия, инсулинрезистентность, сахарный диабет II типа и ожирение [18, 45]. В этом плане следует отметить, что постепенное снижение биоактивности инсулиноподобного фактора роста-1 (ИПФР-1) в крови по мере старения тоже ассоциировано со снижением когнитивной функции [39], равно как и с более высокой смертностью от сердечно-сосудистой патологии [33], что находится в определенном противоречии с часто декларируемой ролью ИПФР-недостаточности в увеличении продолжительности жизни у экспериментальных животных [52]. В целом же, можно прийти к заключению, что в то время как некоторые факторы риска развития гормонально-зависимых опухолей (избыток эстрогенов и ИПФР-1) способствуют оптимальному функционированию центральной нервной системы и, не исключено, уменьшению числа нейродегенеративных заболеваний, другие (например, инсулинрезистентность), напротив, препятствуют этому. Расшифровка возможных механизмов подобной дихотомии, отражающей один из аспектов связей между ОНЗ на разных этапах онтогенеза, несомненно, нуждается в дополнительном анализе.

Продолжая обсуждение таких связей, следует добавить, что с возрастом и у женщин (особенно с

наступлением менопаузы), и у мужчин после 50 лет снижается минеральная плотность кости (МПК), что при достижении определенных показателей сначала расценивается как остеопения, а затем уже и как явный *остеопороз*. По некоторым данным, остеопороз развивается у одной из 3–4 женщин и у одного из 10–12 мужчин [11, 55]. Помимо конституциональных и экзогенных факторов (в частности, курения), на величину МПК весьма существенное влияние оказывает генетическая составляющая, объясняющая значительную вариабельность этого показателя при популяционных исследованиях, а также абсолютную величину и сроки достижения пика МПК, то есть ее индивидуального максимума в течение жизни [73]. С другой стороны, хотя обычно говорится о том, что потеря МПК после определенного возраста находится на уровне 0,5–1,5 % в год, данный показатель может различаться в широких пределах, которые далеко не всегда диктуются лишь механическими свойствами кости [61, 74]. Такое положение дел привело, в частности, к подразделению женщин, находящихся в менопаузе, на теряющих МПК (по отношению к ее пику) быстро и медленно (*fast and slow bone-losers*) [73] и к формированию представления об «успешном скелетном старении», сопровождающемся более низкими показателями частоты переломов, нетрудоспособности и общей летальности [34]. Приведенную информацию следует считать достаточно важной, особенно с учетом того, что повышение МПК коррелирует с частотой заболеваемости коронарным атеросклерозом и инсультом негативно [32, 56], а с риском последующего развития таких опухолей гормонально-зависимых тканей, как рак молочной железы и эндометрия, — позитивно [35, 72]. Таким образом, если сознательно рассматривать МПК лишь как суррогатный маркер эстрогенной насыщенности организма, то очевидно, что по направленности ее взаимоотношений с отдельными неинфекционными заболеваниями имеются несомненные отличия (рис. 3), в силу чего представляет дополнительный интерес анализ уже упоминавшихся множественных причин смерти и их сочетаний у людей старших возрастных групп.

Следует сказать, что изучение множественных причин смерти рассматривается как важный метод медицинской статистики не только «настоящего», но и «будущего», позволяя с той или иной степенью точности прогнозировать дальнейший ход событий и своевременно готовиться к изменениям в структуре заболеваемости на близкую и отдаленную перспективу [85]. Поскольку в ряде стран в

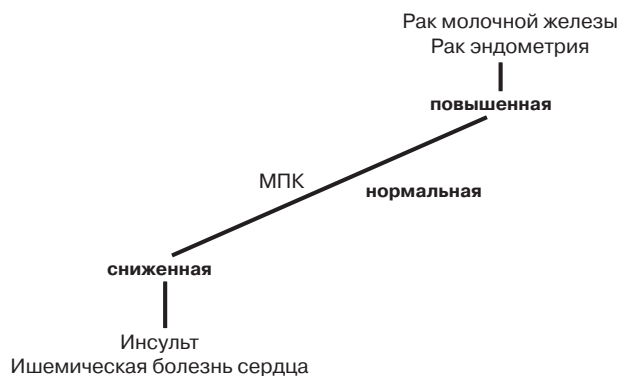


Рис. 3. Минеральная плотность кости (МПК) как суррогатный маркер риска ряда основных неинфекционных заболеваний человека [4]

соответствующих документах фиксируют не только основную причину кончины, но и сопутствующие заболевания, которые могли так или иначе повлиять на наступление летального исхода, это дает в руки исследователей инструмент для более широкой оценки накапливаемой информации, тем более, что, как полагают, лишь в одном случае из пяти дело действительно ограничивается только одной причиной. Примечательные цифры в данном отношении можно найти в тщательно выполненном канадском анализе: максимальное число причин смерти в изученных авторами сертификатах доходило до 16, а в среднем эта величина равнялась 2,68. В том случае, если основной причиной смерти признавался сахарный диабет, общее число причин летальности было равно 3,70; соответствующая цифра при цереброваскулярных заболеваниях равнялась 3,04, при ишемической болезни сердца (ИБС) — 3,02, при раке молочной железы — 2,64, а при всех злокачественных новообразованиях — 2,49 [94].

Только что отмеченный тренд в сторону меньшего числа множественных причин смерти у людей, погибающих от злокачественных новообразований, может, на первый взгляд, показаться случайным или возникающим под «психологическим давлением» такого диагноза, как рак, когда поиск дополнительных заболеваний, как причины летального исхода, не представляется необходимым. Этому вопросу был прямо или косвенно посвящен ряд работ, которые отвергли подобное объяснение как поверхностное и лишь отчасти соответствующее истинному положению дел [85, 94, 97]. Действительно, заболевание злокачественной опухолью и затем смерть от нее не исключают, особенно у людей пожилого возраста, параллельного наличия или развития другого хронического неинфекционного процесса,

ухудшающего здоровье и имеющего самостоятельное значение, а следовательно, обоснованно заслуживающего регистрации, если она проводится на должном уровне [81]. Не заходя далеко в историю вопроса, можно отметить, что более низкий уровень коморбидности у онкологических больных (за небольшими исключениями) был отмечен не только в канадском [94], но и в голландском исследовании [64]. Из табл. 7, заимствованной с некоторыми сокращениями из работы К. Wilkins и соавт. [94], следует, что в том случае, когда в качестве основной причины смерти в сертификате упоминалась ИБС, дополнительными причинами летального исхода чаще всего были сахарный диабет и атеросклероз, а злокачественные новообразования уступали в этом отношении, в частности, астме, туберкулезу, инсультам и болезни Альцгеймера. При этом существенных отличий между упоминанием в качестве дополнительной причины кончины новообразований гормонально-зависимых тканей (выделены в табл. 7 курсивом) и других опухолей обнаружить не удалось.

Добавим, что, по наблюдениям E. Stallard [85], среди множественных причин смерти в случае ИБС как основной причины фигурируют диабет, гипертония, хронические обструктивные заболева-

ния легких, в случае цереброваскулярных заболеваний — гипертония, атеросклероз, диабет, в случае самого диабета — гипертония, нефрит/нефроз, атеросклероз, инсульт и т.д. Как это ни кажется удивительным (особенно в отношении диабета II типа, который нередко рассматривают как фактор повышенного онкологического риска [4, 51]), злокачественные новообразования ни в одном из этих случаев в качестве лидирующих сопутствующих причин не упоминаются, что, по сути, не расходится и с данными, приводимыми К. Wilkins и соавт. [94].

Пожалуй, наиболее обстоятельную, в том числе с фундаментальной точки зрения, информацию по затрагиваемой проблеме содержит недавняя публикация А. Yashin и соавт. [97]. Эта группа, хорошо известная своими работами в области статистики заболеваемости у пожилых и биостатистики старения, ставит вопрос следующим образом: не происходит ли trade-off (компромисс, уступка, конкуренция) между раком как нозологическим понятием, с одной стороны, и другими ОНЗ, с другой, что находит свое отражение в негативной корреляции между смертностью от онкологических и других хронических неинфекционных заболеваний? В качестве одного из потенциально возможных механистических объяснений, лежащих в основе подобного trade-off, А. Yashin и соавт. [97] предлагают принимать во внимание процесс апоптоза и ассоциированные с ним гены, экспрессия которых может быть разнонаправленной при раке (ослабление апоптоза) и, например, при ИБС. Адресуясь к представлениям о том, что факторы, предрасполагающие к развитию злокачественных новообразований, могут одновременно замедлять процесс старения и, наоборот, что уменьшение частоты развития спонтанных опухолей в эксперименте может сопровождаться увеличением продолжительности жизни (в частности, при определенном уровне ограничения в поступлении калорий) [1, 31, 53], исследователи задаются вопросом: к каким последствиям (в том числе для продолжительности жизни) может привести изменение баланса между характеризующейся, по их мнению, обратной зависимостью заболеваемостью раком и иными основными некомуникабельными болезнями [97]?

Опираясь, как и ранее перечисленные авторы [85, 94], на анализ множественных причин смерти по базе данных Национального центра статистики здоровья (NCHS), А. Yashin и соавт. [97] указывают, во-первых, на то, что в течение последних 25 лет в США значительно снизилась

Таблица 7

Относительная частота упоминания разных дополнительных причин смерти у людей, скончавшихся от ишемической болезни сердца как первопричины летального исхода [94]

Дополнительная причина кончины, упомянутая в сертификате	Относительная частота	
	мужчины	женщины
Сахарный диабет	2,70	2,57
Атеросклероз	2,26	1,56
Астма	1,59	1,45
Болезни почек	1,37	1,41
Туберкулез	0,90	0,96
Инсульт	0,77	0,68
Болезнь Альцгеймера	0,68	0,61
Пневмония	0,55	0,58
<i>Рак предстательной железы</i>	0,47	–
Рак почки	0,36	0,30
<i>Рак матки</i>	–	0,30
<i>Колоректальный рак</i>	0,30	0,26
Рак желудка	0,29	0,28
<i>Рак молочной железы</i>	–	0,28
Рак легкого	0,25	0,21

Примечание. Курсив — см. примеч. к табл. 1

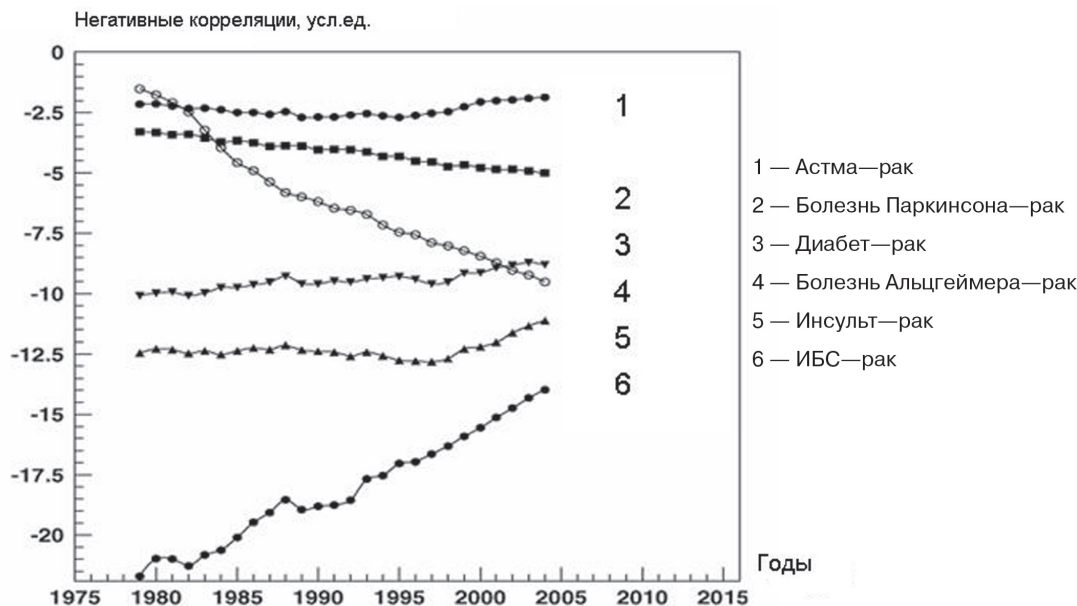


Рис. 4. Погодовая динамика негативных корреляций смертности в отдельных парах основных неинфекционных заболеваний в США (1980–2005 гг.) [97]

смертность от ИБС, тогда как от диабета и болезни Альцгеймера возросла, а от астмы, болезни Паркинсона и рака практически не изменилась, и, во-вторых, на то, что негативная корреляция уровней смертности выражена в наибольшей степени в паре «ИБС—рак», хотя она за те же четверть века и несколько ослабла (рис. 4). Поскольку первое из этих наблюдений, а именно уменьшение смертности от ИБС, очевидно, никак не связано с тенденцией к постарению населения, а скорее, является результатом мер общественной и индивидуальной профилактики и более эффективной, чем ранее, терапии, такое обстоятельство может вносить свою лепту в соотношение между заболеваемостью той же ИБС и раком, но вряд ли является определяющим [97].

Более вероятным этим исследователям представляется такой ход событий, при котором организм подвергается влиянию факторов, способствующих формированию как негативных, так и позитивных корреляционных связей между отдельными хроническими болезнями, причем конечный результат зависит от длительности и интенсивности упомянутых воздействий в разные периоды жизни. В качестве примера на основании обработки сведений, почерпнутых из Framingham Heart Study, говорится о том, что выживаемость и особенности заболеваемости лиц старше 65 лет, принадлежащих к двум группам — potentially long-lived (PLL) и potentially medium-lived (PML), определяются величиной целого ряда физиологических показате-

лей в возрастном интервале между 40 и 60 годами [96]. Хотя такой подход в деталях и в некоторых общих вопросах относительно не нов [3, 10, 68], он справедливо указывает на резервы, которые могут быть привлечены как для понимания особенностей ассоциации ОНЗ с возрастом, так и самих этих заболеваний (включая гормонально-зависимые новообразования) между собой.

Несмотря на то, что абсолютная частота ОНЗ увеличивается с возрастом, этот рост: а) далеко не во всех случаях «бесконечен» и б) далеко не всегда параллелен, если иметь в виду индивидуальный (то есть у одних и тех же людей) анализ сочетаний отдельных заболеваний. Соответственно, рак гормонально-зависимых тканей может как комбинироваться с другими хроническими заболеваниями, так и «вытесняться» ими в рамках общей структуры заболеваемости и смертности. Попытка понимания причин таких различий, помимо уже приводившихся сведений, требует *отдельного и внимательного рассмотрения* предположений о закономерностях формирования условий для развития ОНЗ или противодействия ему на ранних и самых ранних этапах жизни и в те ее периоды, которые характеризуются как долгожительство.

Здесь же лишь кратко отметим, что одна из интегральных стигмат внутриутробной ситуации и так называемого фетального программирования [28, 54] — масса детей при рождении — связана с формированием впоследствии таких процес-

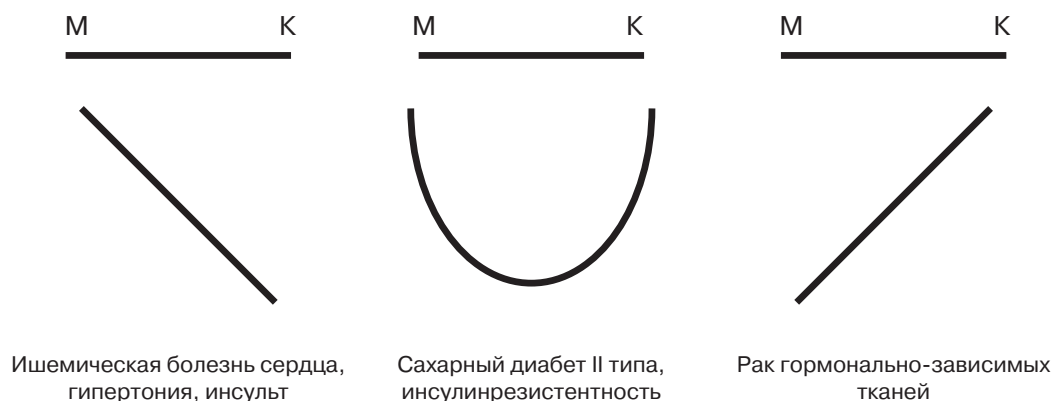


Рис. 5. Характер зависимости между массой при рождении и заболеваемостью во взрослой жизни (обобщенная тенденция)

М — низкая масса при рождении; К — высокая масса при рождении

сов, как опухоли гормонально-зависимых тканей, с одной стороны, и ИБС, гипертония и инсульты — с другой, противоположной зависимостью (соответственно, прямо и обратно пропорциональной). С заболеванием во взрослом возрасте сахарным диабетом и со снижением чувствительности к инсулину эта связь носит нелинейный характер и описывается параболой, имеющей максимум «по краям» спектра значений массы новорожденных ([5, 28, 48, 54], рис. 5). Понятно, что при оценке и этих наблюдений, и значимости для развития ОНЗ человека иных маркеров и событий пре- и раннего постнатального этапа жизни необходимо принимать во внимание тот поправочный коэффициент, который могут вносить в «итоговый результат» гормонально-метаболические особенности периодов младенчества, детства, полового созревания, юности и ранних лет взрослой жизни, а также факторы, связанные с наследственностью и с влиянием разнообразных внешних воздействий.

С другой стороны, хотя границы такого понятия, как долгожительство, логично «начинаются» после 80 лет (поскольку к этой величине, по данным Всемирного банка [95], близка в начале XXI в. средняя ожидаемая продолжительность жизни в некоторых экономически развитых странах), еще более притягательным рубежом естественного и общего интереса является барьер 100 лет, то есть попадание в группу так называемых centenarians. Одним из широко известных исследований в данном отношении, наряду с проводимыми в скандинавских странах и Италии, является североамериканское New England Centenarian Study (NECS), в котором утверждается, что лица, достигшие столетнего возраста, принадлежат к селективной группе людей, стареющих медленно и «от-

кладывающих на потом» патологические процессы, которые обычно развиваются и выявляются значительно раньше [76]. Помимо «откладывающих на потом» (delayers), среди столетних выделяют как «переживших» относящуюся к ОНЗ болезнь, которая была зарегистрирована до 80 лет (survivors), так и пришедших к своему вековому юбилею вообще без каких-либо ОНЗ (escapers) [41]. В дополнение отмечается следующее.

1. У людей, прошедших 80–85-летний рубеж, при старении на протяжении последующих 15–20 лет, то есть к 100 годам и более, среди причин смерти относительно увеличивается доля застойной сердечной недостаточности и дегенеративных неврологических заболеваний и уменьшается доля рака, инфаркта миокарда, диабета, хронических obstructивных процессов в легких [46]. Характерно также снижение частоты выявления инсулинрезистентности [26, 27]. При этом, из-за отсутствия достаточно объемных лонгитудинальных исследований не ясно, проходит ли данная группа людей через этап инсулинрезистентности с последующим (в столетнем возрасте и более) восстановлением чувствительности к инсулину или же последняя у них с годами просто не утрачивается. По одному из объяснений, долгожителям присущ вариант так называемого прогрессивного ремоделирования обмена веществ и адаптации к постепенно накапливающимся «вредным воздействиям» [27, 75].

2. Характерной для значительной части 100-летних людей является не растянутая во времени, а быстрая концентрация заболеваемости ОНЗ к концу жизни [87].

3. Частота онкологической заболеваемости, как об этом говорилось выше, демонстрирует поворот к снижению в 75–80 лет [49, 88] и, не нарастая

«монотонно» [89], отличается в данном отношении от «идущей вверх» повозрастной распространенности ИБС и атеросклероза. У 100-летних, по некоторым данным, чаще бывают новообразования гормонально-зависимых тканей (предстательной и молочной желез, ободочной кишки), но средний возраст, в котором выявляются опухоли, существенно выше, чем в популяции в целом — 80,5 года против 63,2 года [23], что, возможно, свидетельствует и об отличиях в механизмах возникновения и течения таких новообразований.

Суммируя, можно заключить, что хотя основные хронические заболевания человека выявляются, по большей части, во второй половине жизни, формирование их гормонально-метаболической базы растянуто во времени, нередко начинается за много десятилетий до появления признаков подобных патологических процессов и демонстрирует при этом не всегда однозначный характер ассоциаций с отдельными составляющими данной группы заболеваний. Действительно, если в качестве примера ОНЗ взять, с одной стороны, рак гормонально-зависимых тканей (причем, сознательно — без глубокого учета отдельных его локализаций), а с другой — ИБС/атеросклероз, то из приводившихся в настоящей работе сведений можно видеть, что на определенном этапе кривые заболеваемости ими идут параллельно, а на определенном — особенно в заключительном периоде онтогенеза — расходятся, равно как и «расходится» направленность некоторых эндокринных маркеров и механизмов, благоприятствующих или, напротив, препятствующих возникновению данных заболеваний. Не исключено, что все это нужно принимать во внимание и в прикладной сфере, в частности при разработке привязанных к определенным временным периодам и мишеням программ по предупреждению этих важных форм патологии человеческого организма.

Литература

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003.
2. Беленков Ю. Н., Оганов Р. Г. Кардиология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.
3. Берштейн Л. М. Гормоны, возраст, старение и рак // В кн.: Рак у пожилых. СПб.: Н-Л, 2004. С. 108–134.
4. Берштейн Л. М. Онкоэндокринология: традиции, современность и перспективы. СПб.: Наука, 2004.
5. Берштейн Л. М. Раннее возникновение рака молочной железы: фетальное программирование, взаимодействие эндокринных, стволовых и генетических факторов // Вопр. онкол. 2008. Т. 54. № 3. С. 260–267.
6. Благосклонная Я. В., Шляхто Е. В., Красильникова Е. И. Метаболический сердечно-сосудистый синдром // Рос. мед. журн. 2001. Т. 9. № 2. С. 67–71.
7. Вишневский А. Г. Демографические проблемы России // В кн.: Россия между Западом и Востоком: мосты в будущее. М.: Междунар. отношения, 2003. С. 164–179.
8. Давыдов М. И., Заридзе Д. Г., Лазарев А. Ф. и др. Анализ причин смертности населения России // Вестн. РАМН. 2007. № 7. С. 17–27.
9. Дедов И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет. М.: Универсум Паблишинг, 2003.
10. Дильман В. М. Четыре модели медицины. Л.: Медицина, 1987.
11. Зоткин Е. Г., Мазуров В. И. Роль кальция и витамина Д в глобальной профилактике остеопороза и остеопоротических переломов // Рос. мед. журн. 2004. Т. 12. № 7. С. 14–21.
12. Кобрин В. И. Влияние эстрогенов на коронарный кровоток, сократительную функцию сердца и развитие реперфузионных аритмий // Рос. физиол. журн. 2002. Т. 83. С. 460–462.
13. Мамедов М. Н., Оганов Р. Г. Эпидемиологические аспекты метаболического синдрома // Кардиология. 2004. № 9. С. 4–8.
14. Медицина климактерия / Под ред. В. П. Сметник. М.: Литера, 2006.
15. Мерабишвили В. М. Онкологическая служба Санкт-Петербурга. СПб.: Мед. пресса, 2003.
16. Мерабишвили В. М. Злокачественные новообразования в мире, России и Санкт-Петербурге. СПб.: ИПК «Коста», 2007.
17. Напалков Н. П. Рак и демографический переход // Вопр. онкол. 2004. Т. 50. № 2. С. 127–144.
18. Орлова А. В., Берштейн Л. М. Когнитивная функция у онкологических больных: роль гормональных факторов // Вопр. онкол. 2003. Т. 49. № 4. С. 400–406.
19. Сафарова Г. Л. Старение населения: демографические аспекты // Успехи геронтол. 1998. Вып. 2. С. 24–32.
20. Федотова Ю. О., Сапронов Н. С. Влияние эстрогенов на центральную нервную систему // Успехи физиол. наук. 2007. Т. 38. № 2. С. 46–62.
21. Чиссов В. И., Мерабишвили В. М., Старинский В. В. и др. Злокачественные новообразования в России (1955–2005) // В кн.: Злокачественные новообразования в мире, России и Санкт-Петербурге. СПб.: ИПК «Коста», 2007. С. 69–104.
22. Чулкова В. А. Психологическое исследование личностных реакций на болезнь при раке молочной железы: Дис. канд. психол. наук: 19.00.04. СПб., 1999.
23. Andersen S. L., Terry D. F., Wilcox M. A. et al. Cancer in the oldest old // Mech. Aging Dev. 2005. Vol. 126(2). P. 263–267.
24. Anisimov V. N. Biology of aging and cancer // Cancer Control. 2007. Vol. 14(1). P. 23–31.
25. Armitage P., Doll R. The age distribution of cancer and multistage theory of carcinogenesis // Brit. J. Cancer. 1954. Vol. 8(1). P. 1–12.
26. Barbieri M., Rizzo M. R., Manzella D. et al. Glucose regulation and oxidative stress in healthy centenarians // Exp. Gerontol. 2003. Vol. 38(1–2). P. 137–143.
27. Barbieri M., Gambardella A., Paolisso G., Varricchio M. Metabolic aspects of the extreme longevity // Exp. Gerontol. 2008. Vol. 43(2). P. 74–78.
28. Barker D. J. P. The developmental origins of adult disease // J. Amer. Coll. Nutr. 2004. Vol. 23(6 Suppl). P. 588S–595S.
29. Barnett K. N., McMurdo M. E., Ogston S. A. et al. Mortality in people diagnosed with type 2 diabetes at an older age: a systematic review // Age Aging. 2006. Vol. 35(5). P. 463–468.
30. Bermejo-Pareja F., Benito-Leon J., Vega S. et al. Neurological Disorders in Central Spain (NEDICES) Study Group. Incidence and subtypes of dementia in three elderly populations of central Spain // J. neurol. Sci. 2008. Vol. 264(1–2). P. 63–72.

31. *Blagosklonny M. V., Campisi J.* Cancer and aging. More puzzles, more promises? // *Cell Cycle*. 2008. Vol. 7(17). P. 1–4.
32. *Broussard D. L., Magnus J. H.* Coronary heart disease risk and bone mineral density among U.S. women and men // *J. Women's Hlth (Larchmt)*. 2008. Vol. 17(3). P. 479–490.
33. *Brugts M. P., Van den Beld A. W., Hofland L. J.* et al. Low circulating insulin-like growth factor I bioactivity in elderly men is associated with increased mortality // *J. Clin. Endocr. Metab.* 2008. Vol. 93(7). P. 2515–2522.
34. *Cauley J. A., Lui L. Y., Barnes D.* et al. Successful skeletal aging: a marker of low fracture risk and longevity. The Study of Osteoporotic Fractures (SOF) // *J. Bone Miner. Res.* 2009. Vol. 24(1). P. 134–143.
35. *Chen Z., Arendell L., Aickin M.* et al. Hip bone density predicts breast cancer risk independently of Gail score: results from the Women's Health Initiative // *Cancer*. 2008. Vol. 113(5). P. 907–915.
36. *Daar A. S., Singer P. A., Persad D. L.* et al. Grand challenges in chronic non-communicable diseases // *Nature*. 2007. Vol. 450(7169). P. 494–496.
37. *Dale A. C., Vatten L. J., Nilsen T. I.* et al. Secular decline in mortality from coronary heart disease in adults with diabetes mellitus: cohort study // *Brit. med. J.* 2008. Vol. 337. P. 236–243.
38. *DePinho R. A.* The age of cancer // *Nature*. 2000. Vol. 408. P. 248–254.
39. *Dik M. G., Pluijm S. M., Jonker C.* Insulin-like growth factor I (IGF-I) and cognitive decline in older persons // *Neurobiol. Aging*. 2003. Vol. 24. P. 573–581.
40. *Eliassen A. H., Hankinson S. E.* Endogenous hormone levels and risk of breast, endometrial and ovarian cancers: prospective studies // *Adv. exp. Med. Biol.* 2008. Vol. 630. P. 148–165.
41. *Evert J., Lawler E., Bogan H., Perls T.* Morbidity profiles of centenarians: survivors, delayers, and escapers // *J. Geront. A) Biol. Sci. Med. Sci.* 2003. Vol. 58(3). P. 232–237.
42. *Ford E. S., Giles W. H., Dietz W. H.* Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey // *J.A.M.A.* 2002. Vol. 287(3). P. 356–359.
43. *Ford E. S., Li C., Sattar N.* Metabolic syndrome and incident diabetes: current state of the evidence // *Diabetes Care*. 2008. Vol. 31(9). P. 1898–1904.
44. *Gale C. R., Martyn C. N.* Birth weight and later risk of depression in a national birth cohort // *Brit. J. Psychiat.* 2004. Vol. 184. P. 28–33.
45. *Gasparini L., Netzer W. J., Greengard P., Xu H.* Does insulin dysfunction play a role in Alzheimer's disease? // *Trends Pharmacol. Sci.* 2002. Vol. 23. P. 288–293.
46. *Gessert C. E., Elliott B. A., Haller I. V.* Dying of old age: an examination of death certificates of Minnesota centenarians // *J. Amer. Geriat. Soc.* 2002. Vol. 50(9). P. 1561–1565.
47. *Gostynski M., Engelter S., Papa S.* et al. Incidence of first-ever ischemic stroke in the Canton Basle-City, Switzerland: a population-based study 2002/2003 // *J. Neurol.* 2006. Vol. 253(1). P. 86–91.
48. *Harder T., Rodekamp E., Schellong K.* et al. Birth weight and subsequent risk of type 2 diabetes: a meta-analysis // *Amer. J. Epidemiol.* 2007. Vol. 165(8). P. 849–857.
49. *Harding C., Pompei F., Lee E. E., Wilson R.* Cancer suppression at old age // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. P. 4465–4478.
50. *Hildrum B., Mykietun A., Hole T.* et al. Age-specific prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation and the National Cholesterol Education Program: the Norwegian HUNT 2 study // *BMC Public Hlth*. 2007. Vol. 7(147). P. 220–227.
51. *Hjartker A., Langseth H., Weiderpass E.* Obesity and diabetes epidemics: cancer repercussions // *Adv. exp. Med. Biol.* 2008. Vol. 630. P. 72–93.
52. *Holzenberger M., Kappeler L., De Magalhaes Filho C.* IGF-1 signaling and aging // *Exp. Geront.* 2004. Vol. 39(11–12). P. 1761–1764.
53. *Hursting S. D., Lavigne J. A., Berrigan D.* et al. Calorie restriction, aging, and cancer prevention: mechanisms of action and applicability to humans // *Ann. Rev. Med.* 2003. Vol. 54. P. 131–152.
54. *Kajantie E.* Early-life events. Effects on aging // *Hormones*. 2008. Vol. 7(2). P. 101–113.
55. *Keen R. W.* Burden of osteoporosis and fractures // *Curr. Osteoporos. Rep.* 2003. Vol. 1(2). P. 66–70.
56. *Kim H. W., Kang E., Im S.* et al. Prevalence of pre-stroke low bone mineral density and vertebral fracture in first stroke patients // *Bone*. 2008. Vol. 43(1). P. 183–186.
57. *Kissela B. M., Khoury J., Kleindorfer D.* et al. Epidemiology of ischemic stroke in patients with diabetes: the greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study // *Diabetes Care*. 2005. Vol. 28(2). P. 355–359.
58. *Krejza J., Mariak Z., Huba M.* et al. Effect of endogenous estrogen on blood flow through carotid arteries // *Stroke*. 2001. Vol. 32. P. 30–36.
59. *Krishnan K. R., DeLong M., Kraemer H.* et al. Comorbidity of depression with other medical diseases in the elderly // *Biol. Psychiat.* 2002. Vol. 52(6). P. 559–588.
60. *Lawlor D. A., Ebrahim S., Smith G. D.* Role of endogenous oestrogen in aetiology of coronary heart disease: analysis of age related trends in coronary heart disease and breast cancer in England and Wales and Japan // *Brit. med. J.* 2002. Vol. 325(7359). P. 311–312.
61. *Leppänen O. V., Sievänen H., Jokihaara J.* et al. Pathogenesis of age-related osteoporosis: impaired mechanoresponsiveness of bone is not the culprit // *PLOS ONE*. 2008. Vol. 3(7). P. e2540.
62. *Levi F., Lucchini F., Negri E., La Vecchia C.* Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world // *Heart*. 2002. Vol. 88. P. 119–124.
63. *Li X., Sundquist J., Sundquist K.* Age-specific familial risks of depression: a nation-wide epidemiological study from Sweden // *J. Psychiat. Res.* 2008. Vol. 42(10). P. 808–814.
64. *Mackenbach J. P., Kunst A. E., Lautenbach H.* et al. Competing causes of death: an analysis using multiple-cause-of-death data from The Netherlands // *Amer. J. Epidemiol.* 1995. Vol. 141(5). P. 466–475.
65. *Mathers C. D., Loncar D.* Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 // *PLOS Med.* 2006. Vol. 3(11). P. 2011–2031.
66. *McEwen B. S., Alves S. H.* Estrogen actions in central nervous system // *Endocr. Rev.* 1999. Vol. 20. P. 279–307.
67. *Million Women Study Collaborators.* Patterns of use of hormone replacement therapy in one million women in Britain, 1996–2000 // *Brit. J. Obstet. Gynaec.* 2002. Vol. 109. P. 1319–1330.
68. *Mitnitski A. B., Mogilner A. J., MacKnight C., Rockwood K.* The accumulation of deficits with age and possible invariants of aging // *Scientific Wld J.* 2002. Vol. 2. P. 1816–1822.
69. *Montazeri A., Jarvandi S., Ebrahimi M.* et al. The role of depression in the development of breast cancer: analysis of registry data from a single institute // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2004. Vol. 5(3). P. 316–319.
70. *Morbidity & Mortality Weekly Report.* Trends in Ischemic Heart Disease Death Rates for Blacks and Whites — United States, 1991–1995 // *MMWR*. 1998. Vol. 47(44). P. 945–949.
71. *Murray C. J., Lopez A. D.* The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020. Boston: Harvard University Press, 1996.
72. *Newcomb P. A., Trentham-Dietz A., Egan K. M.* et al. Fracture history and risk of breast and endometrial cancer // *Amer. J. Epidemiol.* 2001. Vol. 153(11). P. 1071–1078.
73. *Nordin B. E. C., Need A. G., Horowitz M.* Bone disease and aging // In: *Contemporary Endocrinology: Endocrinology of Aging*. Totowa, NJ: Humana Press, 2000. P. 93–108.

74. O'Neill T. W., Roy D. K. How many people develop fractures with what outcome? // *Best Pract. Res. Clin. Rheum.* 2005. Vol. 19(6). P. 879–895.
75. Paolisso G., Barbieri M., Bonafè M., Franceschi C. Metabolic age modelling: the lesson from centenarians // *Europ. J. clin. Invest.* 2000. Vol. 30(10). P. 888–894.
76. Perls T. T. The Oldest Old // *Sci. Amer.* 1995. Vol. 272. P. 70–75.
77. Pompei F., Wilson R. Age distribution of cancer: the incidence turnover in old age // *Hum. Ecol. Factors Assessment.* 2001. Vol. 7. P. 1619–1650.
78. Purohit A., Reed M. J. Regulation of estrogen synthesis in postmenopausal women // *Steroids.* 2002. Vol. 67(12). P. 979–983.
79. Reich M., Lesur A., Perdrizet-Chevallier C. Depression, quality of life and breast cancer: a review of the literature // *Breast Cancer Res. Treat.* 2008. Vol. 110(1). P. 9–17.
80. Ries L. A. G., Melbert D., Krapcho M. et al. (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975–2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD, 2008. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/ based on November 2007 SEER data submission.
81. Rowland J. H., Yancik R. Cancer survivorship: the interface of aging, comorbidity, and quality care // *J. nat. Cancer Inst.* 2006. Vol. 98(8). P. 504–505.
82. Santen R. J., Song R. X., Masamura S. et al. Adaptation to estradiol deprivation causes up-regulation of growth factor pathways and hypersensitivity to estradiol in breast cancer cells // *Adv. exp. Med. Biol.* 2008. Vol. 630. P. 19–34.
83. Simpkins J. W., Singh M. More than a decade of estrogen neuroprotection // *Alzheimers Dement.* 2008. Vol. 4(1). Suppl. 1. P. S131–S136.
84. Sonnenschein E., Brody J. A. Effect of population aging on proportionate mortality from heart disease and cancer, U.S. 2000–2050 // *J. Geront. B) Psychol. Sci. Soc. Sci.* 2005. Vol. 60. P. 110–112.
85. Stallard E. Underlying and multiple cause mortality at advanced ages: United States 1980–1998 // *North Amer. Actuarial.* 2002. Vol. 6(3). P. 64–87.
86. Sui X., LaMonte M. J., Laditka J. N. et al. Cardiorespiratory fitness and adiposity as mortality predictors in older adults // *J.A.M.A.* 2007. Vol. 298(21). P. 2507–2516.
87. Terry D. F., Sebastiani P., Andersen S. L., Perls T. T. Disentangling the roles of disability and morbidity in survival to exceptional old age // *Arch. intern. Med.* 2008. Vol. 168(3). P. 277–283.
88. Ukraintseva S. V., Yashin A. I. Individual aging and cancer risk: how they are related? // *Demogr. Res.* 2003. Vol. 9. P. 8–72.
89. Ukraintseva S. V., Arbeev K. G., Yashin A. I. Epidemiology of hormone-associated cancers as a reflection of age // *Adv. exp. Med. Biol.* 2008. Vol. 630. P. 57–71.
90. *United Nations.* World Population Ageing: 1950–2050. United Nations Publications. NY: UN, 2001. <http://www.un.org/esa/populationpublications/worldageing19502050>.
91. Unwin N., Alberti K. G. Chronic non-communicable diseases // *Ann. Trop. Med. Parasit.* 2006. Vol. 100(5–6). P. 455–464.
92. Wild S., Roglic G., Green A. et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 // *Diabetes Care.* 2004. Vol. 27(5). P. 1047–1053.
93. Wild S., Bryden J. R., Lee R. J. et al. Cancer, cardiovascular disease and diabetes mortality among women with a history of endometrial cancer // *Brit. J. Cancer.* 2007. Vol. 96(11). P. 1747–1749.
94. Wilkins K., Wood P., Wysocki M., Morin C. Multiple causes of death // *Hlth Reports.* 1997. Vol. 9(2). P. 19–29.
95. *World Bank* <http://www.worldbank.org/depweb/english/modules/social/life/index.html> Accessed Sept. 20, 2008.
96. Yashin A. I., Akushevich I. V., Arbeev K. G. et al. Insights on aging and exceptional longevity from longitudinal data: novel findings from the Framingham Heart Study // *Age (Dordr).* 2006. Vol. 28(4). P. 363–374.
97. Yashin A. I., Ukraintseva S. V., Akushevich I. V. et al. Trade-off between cancer and aging: What role do other diseases play? Evidence from experimental and human population studies // *Mech. Aging Dev.* 2009. Vol. 130(1–2). P. 98–104.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 269–281

L. M. Berstein

INTERRELATIONS OF CANCER OF HORMONE DEPENDENT TISSUES AND OTHER NONCOMMUNICABLE DISEASES: LOOK THROUGH THE WINDOW OF AGE AND AGING

N. N. Petrov Research Institute of Oncology, 68 ul. Leningradskaya, Pesochny-2, St.Petersburg 197758, Russia; levmb@endocrin.spb.ru

The group of main noncommunicable diseases (NCDs) includes cardio- and cerebrovascular pathology, cancer, chronic nonspecific respiratory states, diabetes mellitus, osteoporosis, unipolar depression, obesity, etc. Tumors of hormone dependent tissues compose about 35–45% of the whole cancer morbidity. The attempts to understand place of these tumors among other NCDs and analyze their interrelationships with regard to age and aging represent a vital task of contemporary oncoendocrinology. On the ground of accumulated data one can conclude that although principal NCDs are diagnosed mainly in the course of second half of human life, the maturing of their hormonal and metabolic bases is extended in time, rather often starts several decades before clinical appearance and demonstrates diverse character of the associations with different constituents of this group of diseases. As a result it may give rise for the absence of parallelism in age-specific incidence of several main NCDs, especially at concluding stages of ontogenesis.

Key words: age, aging, main noncommunicable diseases, cancer of hormone dependent tissues

В. А. Ямшанов

ЭВОЛЮЦИОННАЯ РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ПРОЯВЛЕНИИ ЦИРКАДИАННОЙ АКТИВНОСТИ И ЗАЩИТЕ ОРГАНИЗМА ОТ КОСМИЧЕСКИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Росмедтехнологий, 197758 Санкт-Петербург, Песочный, ул. Ленинградская, 70; e-mail: crirr@peterlink.ru

Одним из постоянно действующих факторов, влияющих на генетический аппарат, является космическое излучение, зависящее от солнечной активности и имеющее циркадианный ритм. Природа выработала ряд защитных механизмов, позволяющих организму противостоять потоку радиации и сопутствующим ей свободным радикалам. Вместе с тем, сбои в работе этих механизмов могут вызывать повреждения генетического аппарата, ускорять старение организма и приводить к ряду заболеваний. Предполагается, что для нейтрализации свободных радикалов, вызванных радиацией, организм использует свои свободные радикалы, имеющие физиологические функции, в частности оксид азота. Для ограничения его производства в организме запускается механизм образования мелатонина, также имеющий циркадианный ритм.

Ключевые слова: космические излучения, оксид азота, мелатонин

Все живые организмы на Земле в процессе эволюции подвергаются воздействию солнечного излучения, а также зависящих от солнечной активности галактических космических лучей (ГКЛ) разных энергий. Действие гамма-излучения в организме сопровождается образованием свободных радикалов, влияющих, в том числе, на генетический аппарат клетки. Возможно, что роль ГКЛ в нарушении генома еще не до конца оценена. Ранее было высказано предположение, что ГКЛ, в том числе нейтронное излучение, рассеиваются на протонах, содержащихся в парафине, с образованием гамма-квантов, что вызывает ряд физико-химических и биологических эффектов [2]. Недавно нами было показано, что нахождение проб крови человека в парафиновом экране приводило к ускорению апоптотических процессов в лейкоцитах, причем этот эффект был сравним с гамма-облучением проб крови в дозе 2 Гр [8]. В организме животных и человека также имеются ткани, богатые протонами, в частности жировые. Поэтому в таких тканях можно ожидать образования свободных радикалов вследствие действия ГКЛ. Предполагается, что природа выработала защитные механизмы от

повреждающего геном действия космических излучений, в частности в виде свободных радикалов, обладающих физиологическими функциями. К ним относится производство такого агента, как оксид азота (*NO*). Следует отметить, что *NO* легко создается и диффундирует в жировую ткань.

В работе [9] нами было показано, что геомагнитные поля (ГМП) имеют циркадианный ритм с минимумом активности в утренние часы и с максимумом, зависящим от сезона года. Было также высказано предположение, что, наряду с освещенностью, в циркадианной выработке гормона мелатонина участвуют геомагнитные вариации, от которых зависит производство *NO*. Считается, что в генерации суточных ритмов ключевая роль принадлежит супрахиазматическим ядрам гипоталамуса, которые влияют на эпифиз с суточным ритмом из-за изменения освещенности [1, 3]. Продуктом секреции эпифиза является мелатонин, который регулирует многие биоритмы организма. Как мощный антиоксидант и иммуномодулятор, мелатонин увеличивает продолжительность жизни животных, что позволяет его отнести к ряду геропротекторов [1, 3]. Полагают, что нарушения в цикличности продукции мелатонина приводят к ускорению процессов физиологического старения. Мелатонин, как эффективный нейтрализатор *NO*, кроме всего прочего, ингибирует *NO*-синтазу разного происхождения [14, 17]. Одним из источников *NO* в организме животных является процесс разрушения части нейтрофилов и макрофагов. Этот процесс зависит от состояния ГМП. Чем ниже уровень ГМП, тем выше скорость распада клеток крови и тем больше образуется *NO* [5, 10]. Поэтому в ночные часы, когда начинается спад геомагнитной активности и увеличивается производство *NO*, включается механизм образования мелатонина с максимумом около 3 ч ночи, что ограничивает уровень *NO* в организме. Выработка *NO* заканчива-

ется в утренние часы (8–10 ч), когда геомагнитная активность начинает возрастать.

Уровень ГМП зависит от солнечной активности, связанной с числом и мощностью вспышек. Вместе с тем, уровень ГКЛ находится в отрицательной зависимости от солнечной активности. Поэтому в период низкой ГМП-активности уровень ГКЛ будет повышен и наоборот. Следовательно, в ночные часы, когда ГМП-активность снижается, уровень ГКЛ будет наиболее высоким, но и производство *NO* тоже будет максимальным, то есть природа позаботилась о том, чтобы нейтрализовать повреждающее действие ГКЛ с помощью *NO*. Вместе с тем, избыток последнего также является опасным для организма, в том числе в отношении онкопатологии [5–7, 13, 15], поэтому выработка мелатонина является одним из средств защиты организма от токсического действия самого *NO*. Следует отметить, что его производство в крови в ночное время сопровождается вазодилаторным и расслабляющим организм действием, что способствует возникновению сна.

Ранее нами было показано, что эффективность гамма-облучения крыс в среднетельных дозах зависела от состояния ГМП в день облучения [11], причем чем ниже была ГМП-активность, тем менее эффективным было облучение. Это можно трактовать таким образом, что при низкой ГМП-активности вырабатывается больше *NO* при распаде гранулоцитов крови животных, что оказывает защитное действие при облучении. Эти данные полностью укладываются в картину эволюционной роли *NO* в защите организма от гамма-облучения. Кроме того, показано, что даже в малых дозах рентгеновское облучение активирует образование *NO* в организме крыс [4].

Известно, что в сыворотке крови человека содержание мелатонина в ночные часы достигает 100 нг/л и выше, что соответствует концентрации около 500 пМ, а затем она в дневное время снижается на порядок [1]. С возрастом уровень мелатонина в крови падает, что связывают с ослаблением антирадикальной функции систем организма. Содержание *NO* в крови оценивается как 445–600 нМ [16], тогда как в криптах кишечника во время воспалительного процесса оно достигает величины 1 мкМ за счет производства *NO* в активированных макрофагах, что, как полагают, может иметь отношение к онкопатологии кишечника [13]. Полагают, что большая часть *NO* в крови остается связанной с гемоглобином [16], хотя истинное распределение *NO* в организме еще предстоит опре-

делить. Вместе с тем, содержание *NO*, которое освобождается из эритроцитов и достигает сосудистой стенки, оценивают от 0,04 пМ при свободной диффузии до 43 пМ при наличии транспортного механизма, и в некоторых случаях — до 260 пМ [12], что сопоставимо с содержанием мелатонина в крови. Нужно учесть, что мелатонин подавляет *NO*-синтазную активность, что повышает эффективность мелатонина для нейтрализации *NO*.

В настоящее время считают, что повышение уровня мелатонина в организме снижает частоту новообразований как у человека, так и у лабораторных животных, а угнетение функции шишковидной железы приводит к противоположному эффекту [1, 3]. Рак молочной железы, рак матки, предстательной железы, щитовидной железы, легкого и других сопровождается у больных снижением синтеза мелатонина в ночные часы и снижением уровня экскреции его метаболитов [1, 3]. Снижение уровня синтеза мелатонина означает также, что в организме увеличивается содержание *NO* и его канцерогенных производных. Можно также отметить, что у новорожденных выработка мелатонина находится на низком уровне, и лишь к 1–3 годам она увеличивается и приобретает циркадианный ритм [3]. Ранее нами было показано, что риск онкопатологии у людей, связанный с состоянием ГМП в раннем возрасте, также прослеживается до 1–2 лет, и к 3 годам практически исчезает зависимость этого риска от изменений ГМП [7]. Здесь наблюдается связь риска онкопатологии у взрослых с состоянием эндокринных систем, вырабатывающих мелатонин и влияющих на уровень *NO* в организме.

Таким образом, складывается следующая картина. Космические излучения имеют выраженный циркадианный ритм. Эволюционно выработанный механизм, защищающий организм от их действия, связан с производством свободных радикалов, имеющих физиологическое значение, в частности *NO*. Для регулирования уровня *NO* в организме используется, в том числе, система производства мелатонина, также имеющая циркадианный ритм. Природа предусмотрела защиту организма от токсического действия космических излучений, а также контрзащиту от избыточного количества *NO* как следствия такой защиты. Вместе с тем, нарушение ритмики природных процессов, в частности повышенная освещенность в ночное время, ночные смены, смена часовых поясов, вариации ГМП приводят к нежелательным последствиям для человека и животных. Повышается частота возникновения

опухолей, снижается иммунитет, развиваются дегенеративные механизмы, связанные со старением и продолжительностью жизни [1, 3].

Литература

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003.
2. Леднев В. В., Белова Н. А., Сребницкая Л. К. Влияние парафинового экрана на электрофизические свойства водосодержащих систем // В кн.: Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине. Тез. IV Междунар. конгресса. СПб., 3–7 июля 2006 г. С. 32.
3. Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Шатило В. Б. Пинеальная железа: пути коррекции при старении. СПб.: Наука, 2006.
4. Коробов В. Н., Сорокина Л. В., Коробова О. В., Дацюк Л. А. Малые дозы рентгеновского излучения активируют НО-синтазную компоненту цикла оксида азота // Радиационная биология и радиоэкология. 2003. Т. 43. № 2. С. 182–185.
5. Ямшанов В. А. Влияние геомагнитного поля на состав лейкоцитов крови онкологических больных: роль окиси азота // Вопр. онкол. 2007. Т. 53. № 4. С. 456–460.
6. Ямшанов В. А. Геомагнитные вариации в раннем онтогенезе как фактор риска онкопатологии // Вопр. онкол. 2003. Т. 49. № 5. С. 608–611.
7. Ямшанов В. А. Геомагнитные поля в пренатальном периоде и рак у взрослых // Вопр. онкол. 2007. Т. 53. № 2. С. 175–178.
8. Ямшанов В. А., Кованько Е. Г., Кошелевский В. К., Иванов С. Д. Влияние парафинового экрана на показатель радиочувствительности лейкоцитов крови человека // В кн.: От лучей Рентгена — к инновациям XXI века. Матер. науч. конф.,

посвящ. 90-летию РНЦ РХТ. СПб., 8–10 окт. 2008 г. С. 338–339.

9. Ямшанов В. А., Кошелевский В. К. Влияние изменений геомагнитного поля на циркадианную активность эпифиза // Успехи геронтол. 2008. Т. 21. № 3. С. 382–385.

10. Ямшанов В. А., Кошелевский В. К. Влияние геомагнитных вариаций на образование окиси азота в выдыхаемом воздухе у человека // Биофизика. 2007. Т. 52. Вып. 4. С. 718–721.

11. Ямшанов В. А., Кошелевский В. К., Кованько Е. Г., Иванов С. Д. Влияние вариаций геомагнитного поля на эффективность облучения экспериментальных животных // В кн.: Новые технологии в медицинской радиологии. Матер. науч. конф. СПб., 24–25 окт. 2001 г. С. 120–121.

12. Chen K., Pikhova B., Pittman R. N. et al. Nitric oxide from nitrite reduction by hemoglobin in the plasma and erythrocytes // Nitric oxide. 2008. Vol. 18. Issue 1. P. 47–60.

13. Chin M. P., Schawer D. B., Deen W. M. Prediction of nitric oxide concentration in colonic crypts during inflammation // Nitric oxide. 2008. Vol. 19. Issue 3. P. 266–275.

14. Karanth Sharada, Yu Wen H., Mastronardi Claudio A., McCann Samuel M. Inhibition of melatonin-induced ascorbic acid and LHRH release by a nitric oxide synthase and cyclic GMP inhibitor // Exp. Biol. Med. 2004. Vol. 229. P. 650–656.

15. Ohshima H. Genetic and epigenetic damage induced by reactive nitrogen species: implications in carcinogenesis // Toxicol. Lett. 2004. Vol. 140–141. P. 99–104.

16. Rogers St. C., Khalatbari A., Gapper P. W. et al. Detection of human red blood cell-bound nitric oxide // J. Biol. Chem. 2005. Vol. 280. Issue 29. P. 26720–26728.

17. Siu A. W., Ortiz G. G., Benitez-King G. et al. Effects of melatonin on the nitric oxide treated retina // Brit. J. Ophthalmol. 2004. Vol. 88. № 8. P. 1078–1081.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 282–284

V. A. Yamshanov

THE EVOLUTIONARY ROLE OF NITRIC OXIDE IN CIRCADIAN ACTIVITY AND DEFENSE OF THE ORGANISM FROM COSMIC RAYS

Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technology, 70 Leningradskaya ul., Pesochny, St. Petersburg 197758; e-mail: crirr@peterlink.ru

The cosmic rays are one of the constantly acting factors influencing on genetic apparatus and depending from sun activity, which have the circadian rhythm. The nature creates a number of mechanisms, which defend the organism from cosmic rays and free radicals as consequence. However, the malfunctions of these mechanisms damage the genetic apparatus, accelerate the aging and bring to a number of illnesses. It is supposed that to neutralise the free radicals as cosmic rays consequence the organism uses its own free radicals, which have the physiological functions, for example, the nitric oxide. To limit the nitric oxide production, the mechanism of melatonin formation is used, which has a circadian rhythm.

Key words: cosmic rays, nitric oxide, melatonin

К. И. Ершов², Т. В. Русова¹, О. В. Фаламеева¹, М. А. Садовой¹, Р. И. Айзман²,
Н. Г. Колосова³

ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ КОСТНОГО МАТРИКСА ПРИ РАЗВИТИИ ОСТЕОПОРОЗА У ПРЕЖДЕВРЕМЕННО СТАРЕЮЩИХ КРЫС OXYS*

¹ НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий, 630091 Новосибирск, ул. Фрунзе, 17;

² Новосибирский государственный педагогический университет, 630126 Новосибирск, ул. Вилюйская, 28;
e-mail: ershov_k@bk.ru; ³ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090 Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

Обеспечивая консолидацию коллагеновых волокон и их связь с кристаллами минералов, протеоглики (ПГ) играют важную роль в формировании костной ткани. Проанализирован состав ПГ внеклеточного матрикса плечевой кости преждевременно стареющих крыс OXYS с признаками раннего остеопороза и крыс Wistar в возрасте 2, 4, 6 и 8 мес. Установлено, что, начиная с 2 мес, минеральная плотность костной ткани крыс OXYS ниже, чем у крыс Wistar, и нарастает только до 6 мес, в то время как у крыс Wistar она увеличивалась в течение всего периода наблюдений. У крыс Wistar формирование пиковой массы костной ткани сопровождалось сменой пулов ПГ в матриксе костной ткани: накоплением высокомолекулярных ПГ, содержащих в своей структуре кератансульфат, снижением содержания уроновой кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов. Крысы OXYS отличались накоплением в костном матриксе низко- и высокомолекулярных ПГ — уроновых кислот, сульфатированных гликозаминогликанов. На фоне увеличения различий в минеральной плотности костной ткани крыс OXYS накапливались хондроитинсульфат-АС и дерматансульфат. В отличие от крыс Wistar, в ней полностью отсутствовал кератансульфат.

Ключевые слова: остеопороз, протеоглики, гликозаминогликаны, внеклеточный матрикс, крысы OXYS

Остеопороз — системное заболевание скелета, характеризующееся снижением костной массы и нарушением ремоделирования костной ткани, ведущее к увеличению хрупкости костей и риска переломов. На фоне изменения демографической обстановки — роста продолжительности жизни и увеличения доли пожилых людей в структуре населения развитых стран — его распространенность приобретает характер эпидемии [1, 6]. Ситуация осложняется омоложением заболевания, что диктует необходимость разработки оптимальных способов ранней диагностики, профилактики и лечения, основанных на глубоком понимании патогенеза заболевания. Исследования в этом направлении ак-

тивно ведутся, однако незаслуженно мало внимания уделяется изучению метаболических процессов в органическом матриксе костной ткани. Один из его компонентов — протеоглики (ПГ), обеспечивающие консолидацию коллагеновых волокон и их связь с кристаллами минералов [18]. В зависимости от своей химической структуры, ПГ могут тормозить или ускорять пролиферацию клеток, влияя на репликацию ДНК и митозы [15]. Такое влияние реализуется за счет взаимодействия ПГ со специфическими рецепторами на клеточной поверхности и генерации сигнала внутри клетки через пути трансмембранной передачи информации к ядерному аппарату синтеза ДНК [13]. ПГ обладают микрогетерогенностью — структурной нерегулярностью строения, что характерно для соединений, выполняющих регуляторные и информационные функции. Такая нерегулярность строения, прежде всего, свойственна сульфатированным гликозаминогликанам — хондроитинсульфатам, гепарансульфату, кератансульфату, то есть определяется углеводной составляющей этих сложных молекул. Известно, что ПГ участвуют в формировании кости. Концентрируясь в фокусе кальцификации, они инициируют минеральный рост, вовлечены в формирование межклеточного матрикса, коллагеновых фибрилл [15, 18], принимают участие в развитии остеобластов из стромальных клеток костного мозга [8, 16]. Благодаря способности поддерживать ферментативную активность катепсина К, ПГ вовлечены и в процессы дегенерации костной ткани [19].

Характер возрастных изменений ПГ костной ткани и их вклад в патогенез остеопороза исследо-

* Работа поддержана РФФИ (грант 08-04-00722).

ваны недостаточно, что обусловлено, в значительной степени, объективными трудностями, с которыми сопряжено изучение этих процессов у людей. Такие трудности отсутствуют при использовании биологических моделей. Ранее мы показали, что моделью остеопороза может служить линия преждевременно стареющих крыс OXYS (Институт цитологии и генетики СО РАН), в костной ткани которых уже в молодом возрасте развиваются изменения состава макро- и микроэлементов [2, 12] и морфологические изменения, аналогичные выявляемым при сенильном остеопорозе у людей [5]. Состояние органического матрикса костной ткани у этих животных ранее не исследовалось.

Целью настоящей работы явилось изучение связи развития у крыс OXYS остеопороза с изменениями количественного и качественного состава углеводного компонента ПГ — гликозаминогликанов (ГАГ) минерализованной части органического матрикса костной ткани. Критерием степени развития остеопороза служила минеральная плотность костной ткани животных.

Материалы и методы

Работа выполнена на крысах-самцах линии OXYS в возрасте 2, 4, 6 и 8 мес из лаборатории разведения животных ИЦиГ СО РАН. Контрольной группой были крысы *Wistar* соответствующего возраста. Животных содержали при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище — стандартному гранулированному корму ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», Россия). В каждую группу входило по 8–10 животных.

Денситометрия крыс. Для определения динамики развития остеопороза у животных под легким эфирным наркозом измеряли минеральную плотность костной ткани методом дихроматической рентгеновской абсорбциометрии (DEXA) на денситометре «HOLOGIC Discovery-A» (США), используя специальную программу «Small animals». Оценивали минеральную плотность плечевой кости крыс ($\text{г}/\text{см}^2$).

Выведение животных из опыта проводили в соответствии с международными нормами (Council of the European Communities Directive 86/609/EES).

Выделение ПГ из костной ткани. Образцы плечевой кости предварительно механически очищали от остатков мягких тканей и красного костного мозга, что позволило свести к минимуму присутствие посторонних ПГ. От каждого образца

отсекали костный фрагмент для определения содержащейся в нем воды (взвешивали до и после высушивания при 100°C).

Образцы взвешивали и декальцинировали в течение 48 ч в 0,5 Н растворе соляной кислоты при температуре $+4^\circ\text{C}$. Оставшийся органический материал промывали дистиллированной водой, измельчали и обрабатывали раствором папаина из расчета 0,2 мг на 1 г сырого веса ткани в Na-ацетатном 0,2 М буфере с добавлением 0,01 М ЭДТА и 0,01 М цистеина pH 5,8 в течение 18 ч при 60°C .

Из полученного раствора белки осаждали добавлением 100 % трихлоруксусной кислоты до конечной концентрации 5 % при $+4^\circ\text{C}$ и центрифугировали в течение 15 мин (12 тыс. об/мин). Супернатант диализовали против 50 мМ Na-ацетатного буфера pH 5,8 с 0,1 М ЭДТА в течение 18 ч при температуре $+4^\circ\text{C}$.

Для выделения интактных ПГ в экстракт добавляли 1 % раствор цетилпиридиния хлорида до конечной концентрации 0,1 % и через 2 ч центрифугировали со скоростью 6 тыс. об/мин [4]. Полученный супернатант отбирали в отдельные пробирки. В дальнейшем ПГ выделяли как из образовавшегося осадка, так и из надосадка.

ПГ из раствора осаждали добавлением трех объемов 96 % этанола с 4 % ацетатом калия и выдерживали в течение 2 ч при -18°C , затем центрифугировали 5 мин при 6 тыс. об/мин [3]. После удаления этанола осадок промывали ацетоном и вновь центрифугировали. Удаляли супернатант, осадок подсушивали при 60°C и далее растворяли в бидистиллированной воде. В образовавшемся гомогенном растворе определяли количество ПГ по химическим составляющим — уроновые кислоты, сульфатированные ГАГ.

Определение уроновых кислот карбазоловым методом. К 40 мкл раствора ПГ добавляли 40 мкл спиртового раствора карбазола (1,25 г карбазола в 1,0 л этилового 96° этанола), встряхивали, доливали 400 мкл тетрабората натрия в серной кислоте (9,5 г тетрабората натрия в 1,0 л концентрированной серной кислоты). Смесь выдерживали на интенсивно кипящей водяной бане 8 мин, затем охлаждали и измеряли экстинкцию при длине волны 535 нм на спектрофотометре «uv-vis mini 1240» (Shimadzu, Япония).

Определение сульфатированных ГАГ. Приготовление рабочего раствора: 2,1 мг диметилметилена голубого растворяли в 200 мл 55 мМ муравьиной кислоты, конечный pH раствора 3,3 [14]. К 10 мкл

раствора ПГ подливали 2,5 мл раствора красителя. Окраска развивается мгновенно и устойчива в течение 3 мин. Ее интенсивность измеряли при длине волны 520 нм против контрольного раствора (10 мкл бидистиллированной воды + 2,5 мл раствора красителя). В качестве стандарта использован хондроитинсульфат С.

Качественное определение видов ГАГ. Качественный состав ГАГ в ПГ исследовали методом электрофореза в 1% геле агарозы в 10 мМ *tris*-буфере рН 7,3 [7].

Исследуемые образцы ПГ последовательно обрабатывали хондроитиназами АС и АВС в 50 мМ *tris*-буфере с рН 7,5 и 8,0, соответственно, в течение 18 ч при температуре 37 °С [7]. Электрофорез проводили в течение 1 ч при температуре +4 °С в горизонтальной камере при силе тока 17 мА, используя источник тока «Эльф-4» (Россия). После окончания процедуры гель окрашивали 0,1% азуром в 50 мМ натрий-формиатном буфере с 10 мМ хлоридом магния рН 3,5. Окрашенный гель отмывали 10 мМ ацетатным буфером рН 5,8 [21]. В качестве стандартов использовали хондроитинсульфаты А, В, С. Для отслеживания движения растворов ПГ при электрофорезе применяли гепарин.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ STATISTICA (версия 6.0). Результаты представлены как $M \pm m$. Для выявления достоверности полученных значений применяли тест множественных сравнений Дункана (Duncan's test, ANOVA). Для корреляционного анализа строилась матрица (Basic Statistics and Tables). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

В работе использованы *Tris*, *NaCl*, агароза, папаин, хондроитиназы АС и АВС, азур А, хондроитинсульфаты А, В, С, («ICN Biomedicals», США), ЭДТА («Медиген», Россия), цистеин («Roana», Болгария), 1,9-диметилметилен голубой («Aldrich-Chemic», Германия), трихлоруксусная кислота, ацетат калия, тетраборат натрия, муравьиная кислота, ортофосфорная кислота («Реактив», Россия), цетилпиридиний хлорид, карбазол, гепарин («Sigma», США), этанол («Росбио», Россия), формиат натрия, хлорид магния, ацетат натрия, ацетон («Реактив», Россия), соляная и серная кислоты, квалификации особой чистоты («Реактив»).

Результаты и обсуждение

Денситометрическое исследование показало (рис. 1), что у крыс OXYs прирост минеральной плотности и массы костной ткани происходит медленнее и не достигает уровня значений этого показателя у крыс Wistar, а в возрасте 6 мес прекращается. У крыс Wistar минеральная плотность продолжает нарастать, и в 8 мес этот показатель у них выше, чем в 6 мес. Межлинейные различия по минеральной плотности плечевой кости регистрируют уже у 2-месячных животных ($p < 0,03$) и с возрастом нарастают ($p < 0,001$).

В настоящем исследовании мы анализировали два пула ПГ из плечевой кости крыс — осаждаемые и неосаждаемые цетилпиридинием хлорида. Осаждаемые ПГ на электрофореграмме имели четкий профиль, характерный для агрегированных структур (рис. 2). Это проявилось в появлении «хвостов» при движении через 1% гель агарозы и свидетельствовало о способности ПГ из костной ткани крыс формировать надмолекулярные комплексы.

Неосаждаемые ПГ из костной ткани имели низкий молекулярный вес и поэтому после обработки цетилпиридинием хлорида не были видны на электрофореграммах. Это позволило нам в дальнейшей работе осаждаемые ПГ рассматривать как высокомолекулярные ПГ, а неосаждаемые — как низкомолекулярные.

Определение качественного вида ГАГ высокомолекулярных ПГ после их обработки хондроитиназой АС с последующим электрофорезом образцов в 0,1 М *tris*-буфере (рН 7,3) показало, что хондроитинсульфат АС присутствует в костной ткани крыс обеих линий во все исследованные возрастные периоды (рис. 3). При последовательной

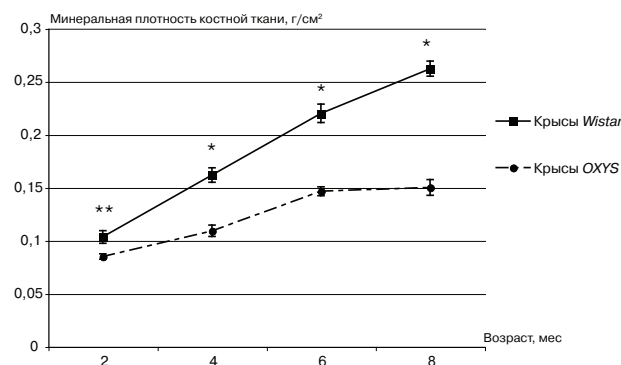


Рис. 1. Изменения с возрастом минеральной плотности плечевой кости у крыс Wistar и OXYs

* $p < 0,01$; ** $p < 0,03$ — отличия между двумя линиями крыс соответствующего возраста

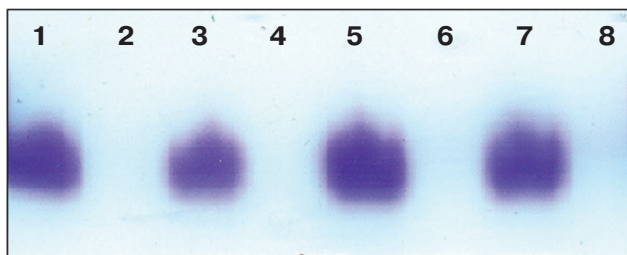
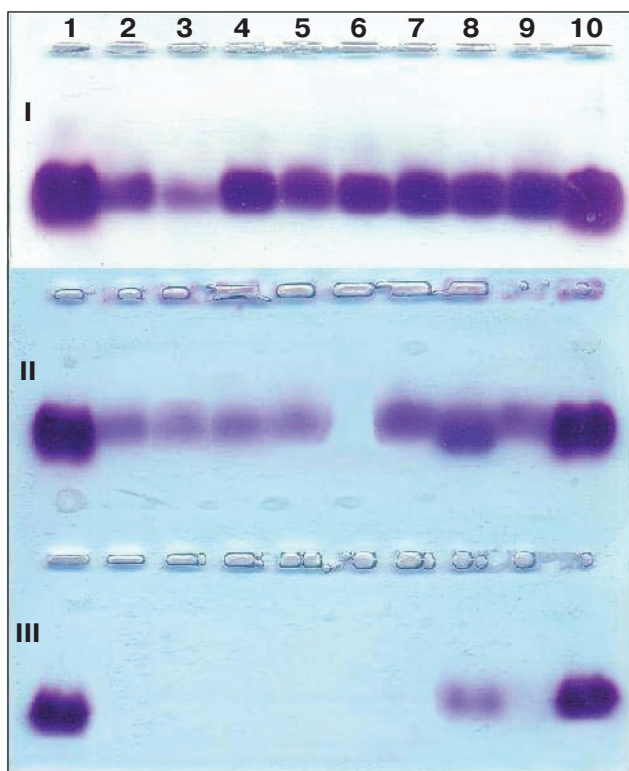


Рис. 2. Электрофореграмма с исходными образцами ПГ плечевой кости крыс OXYS разного возраста

ПГ в возрасте 2, 4, 6 и 8 мес: 1, 3, 5, 7 — высокомолекулярные; 2, 4, 6, 8 — низкомолекулярные



а

ГАГ	Возраст крыс, мес							
	Wistar				OXYS			
	2	4	6	8	2	4	6	8
хондроитинсульфат	+	+	+	+	+	+	+	+
дерматансульфат	+	+	-	-	+	+	+	+
кератансульфат	-	-	-	+	-	-	-	-

б

Рис. 3. Качественное определение ГАГ в плечевой кости крыс разного возраста

а — электрофореграмма: I — исходные образцы растворов ПГ; II — после обработки хондроитиназой АС; III — после обработки хондроитиназой АВС; 1, 10 — стандарт (гепарин); 2 — крысы Wistar 2 мес; 3 — крысы OXYS 2 мес; 4 — крысы Wistar 4 мес; 5 — крысы OXYS 4 мес; 6 — крысы Wistar 6 мес; 7 — крысы OXYS 6 мес; 8 — крысы Wistar 8 мес; 9 — крысы OXYS 8 мес; б — сводная таблица результатов исследований присутствия ГАГ в костном матриксе крыс разного возраста

ферментативной обработке исходных растворов ПГ хондроитиназой АС и АВС на электрофореграммах был выявлен дерматансульфат. Этот ГАГ присутствовал в ПГ из плечевой кости крыс OXYS всех исследованных возрастных групп, а у крыс Wistar он определялся только в 2 и 4 мес. В то же время только в костной ткани 8-месячных крыс Wistar после ферментативной обработки ПГ хондроитиназой АВС было обнаружено присутствие кератансульфата (см. рис. 3). Таким образом, начиная с 6-месячного возраста у крыс двух линий возникают различия в строении ПГ костного матрикса: у крыс OXYS пулы хондроитинсульфата АС и дерматансульфата остаются неизменными, а у крыс Wistar к 6 мес исчезает дерматансульфат и к 8 мес появляется кератансульфат.

Возрастные и межлинейные различия были выявлены и при исследовании количества уроновых кислот (УК) и сульфатированных ГАГ (С-ГАГ) в высокомолекулярных ПГ. Концентрация УК (рис. 4, а) в матриксе костной ткани крыс Wistar в возрасте 6 и 8 мес была достоверно меньше, чем в 2 и 4 мес ($p < 0,01$). У крыс OXYS, напротив, содержание УК к 6 мес нарастало и становилось в 4 раза больше, чем в 2 мес ($p < 0,001$). Затем направленность изменений менялась, и к 8-месячному возрасту содержание УК в костной ткани крыс OXYS становилось на 23% меньше, чем в 6 мес ($p < 0,01$). В результате, в возрасте 2 мес ее содержание в костной ткани крыс OXYS было в 4 раза выше ($p < 0,001$), а в возрасте 6 и 8 мес ($p < 0,001$) — вдвое ниже, чем у крыс Wistar (см. рис. 4, а).

Количество С-ГАГ в высокомолекулярных ПГ (см. рис. 4, б) у крыс Wistar с возрастом монотонно снижалось и в 8 мес становилось в 2 раза ниже, чем у 2-месячных животных ($p < 0,01$). У крыс OXYS содержание С-ГАГ в возрасте 2 мес было в 2,5 раза ниже, чем у крыс Wistar. К 4 мес оно не изменялось, а к 6 мес увеличилось в 2,5 раза ($p < 0,01$) и становилось выше, по сравнению с крысами Wistar, сохраняясь на этом уровне и в возрасте 8 мес (см. рис. 4, б).

В низкомолекулярных ПГ содержание УК с возрастом у крыс Wistar и OXYS изменялось также разнонаправленно (рис. 5, а). У крыс Wistar в период с 2 до 8 мес количество УК уменьшилось в 4 раза ($p < 0,01$). У крыс OXYS концентрация УК возрастала с возрастом: к 4 мес увеличилась в 8 раз ($p < 0,001$), с 4 до 6 мес оставалась постоянной и к 8 мес вновь повысилась ($p < 0,001$). Таким обра-

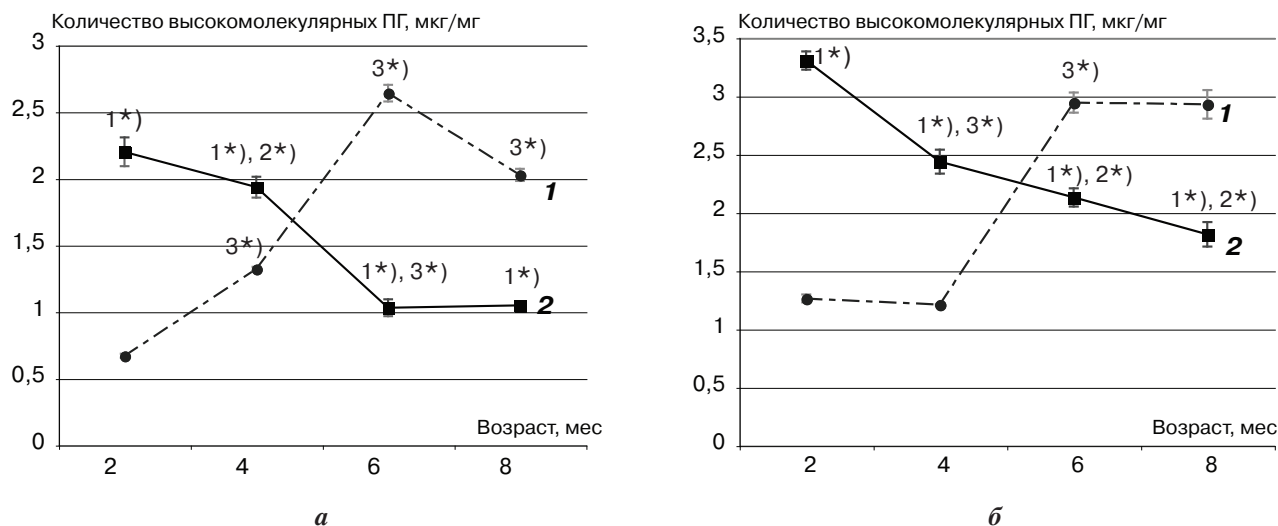


Рис. 4. Содержание высокомолекулярных ПГ в костном матриксе плечевой кости крыс Wistar (1) и OXYS (2)

а — урановые кислоты; б — сульфатированные ГАГ; ^{1*} $\rho < 0,01$ — отличия между двумя линиями крыс соответствующего возраста; ^{2*} $\rho < 0,03$; ^{3*} $\rho < 0,01$ — отличия по сравнению с предыдущим возрастом у соответствующей линии крыс

зом, содержание УК у крыс OXYS в 8 мес превышало значения у крыс Wistar в 20 раз ($\rho < 0,001$).

Концентрация С-ГАГ в низкомолекулярных ПГ у крыс Wistar изменялась в зависимости от возраста: минимальные значения зафиксированы в возрасте 4 и 6 мес; к 8 мес количество С-ГАГ увеличилось ($\rho < 0,01$) и стало таким же, как у 2-месячных крыс этой же линии (см. рис. 5, б). У крыс OXYS содержание С-ГАГ возрастало в процессе эксперимента — увеличилось к 8 мес в 5 раз по сравнению с 2-месячными животными ($\rho < 0,01$).

В литературе достаточно долго бытовало мнение, что концентрация ПГ в костной ткани с возрастом не изменяется. В дальнейшем было установлено, что при остеопорозе за счет активной резорбции сокращается количество всех органических компонентов костной ткани, включая ПГ [9]. Существенное расширение представлений о роли ПГ в формировании костного матрикса сделало очевидным, что изменения их структурно-функциональных характеристик с возрастом могут вносить существенный вклад в развитие остеопороза — заболевания, которое некоторые авторы рассматривают как естественное проявление старения [1, 6, 17].

В своей работе мы исследовали состояние внеклеточного матрикса костной ткани преждевременно стареющих крыс OXYS в период активной манифестации признаков остеопороза — в возрасте от 2 до 8 мес. Оценку минеральной плотности костной ткани (МПКТ) традиционно используют

в клинической практике для диагностики остеопороза, определения стадии развития заболевания. Наши исследования показали, что у крыс OXYS уже в возрасте 2 мес минеральная плотность плечевой кости ниже, чем у крыс Wistar, и с возрастом различия нарастают. Принципиально важно, что у крыс OXYS нарастание МПКТ заканчивается уже к 6-месячному возрасту, в то время как у крыс Wistar она продолжает увеличиваться.

У крыс Wistar формирование полноценной пиковой массы костной ткани протекает на фоне смены пулов ПГ. Оно оказалось тесно связанным с накоплением в матриксе костной ткани высокомолекулярных ПГ, содержащих в своей структуре кератансульфат (КС), $r=0,7$, $\rho < 0,05$. Можно полагать, что такая связь обусловлена тем, что КС является самым сульфатированным из ГАГ костной ткани [10, 11]. Обнаруженный в костном матриксе крыс Wistar и отсутствующий у крыс OXYS КС, вероятно, входит в состав остеоглицина, который является остеоиндуктивным фактором и способствует активному формированию кости [10]. У крыс Wistar параллельно с увеличением МПКТ в высокомолекулярных ПГ снижались концентрации УК и С-ГАГ (см. рис. 4, а, б). Такие изменения явились следствием появления к 8-месячному возрасту в костном матриксе КС, поскольку входящие в структуру КС сульфатные группы создают дополнительные отрицательные заряды, способные адсорбировать на своей поверхности большее количество катионов кальция, по сравнению с хондрои-

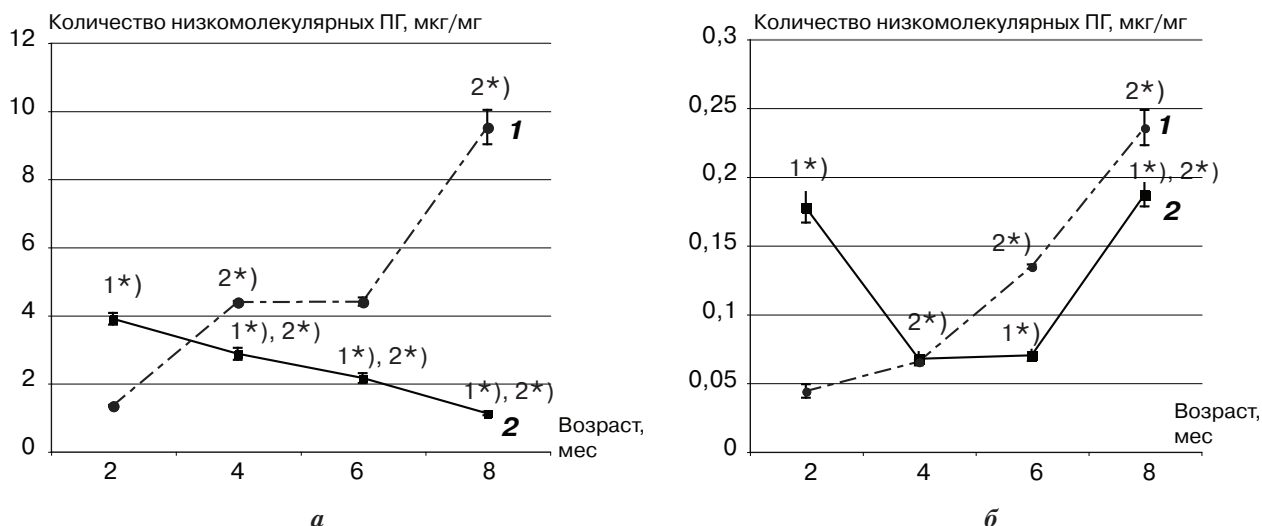


Рис. 5. Содержание низкомолекулярных ПГ в костном матриксе плечевой кости крыс Wistar (1) и OXYS (2)

а — уровневые кислоты; б — сульфатированные ГАГ; ^{1*} $p < 0,01$ — отличия между двумя линиями крыс соответствующего возраста; ^{2*} $p < 0,01$ — отличия по сравнению с предыдущим возрастом у соответствующей линии крыс

тинсульфатами. Как показали наши исследования, уменьшение у крыс Wistar количества УК в ПГ к 6 мес связано с перестройкой молекул ПГ и сокращением в них доли хондроитинсульфата-АС.

Изменения матрикса костной ткани крыс OXYS оказались противоположными тем, что мы наблюдали у крыс Wistar. Развитие остеопороза происходит у них на фоне накопления в матриксе костной ткани хондроитинсульфата АС и дерматансульфата. В литературе нам удалось найти только одну работу, в которой изучали влияние дерматансульфата на минерализацию сухожилия в условиях *in vitro* методами гистохимии [20]; авторы показали, что чрезмерное накопление дерматансульфата во внеклеточном матриксе способно препятствовать процессу минерализации. В нашей работе на существование такой зависимости указывает отрицательная корреляционная связь между уровнем минерализации костной ткани крыс OXYS и содержанием С-ГАГ, УК в высоко-, низкомолекулярных ПГ ($r = -0,81$; $r = -0,88$; $r = -0,80$; $r = -0,78$ соответственно, $p < 0,05$). Кроме того, ранее было показано, что уже к 6 мес в костной ткани крыс OXYS развиваются признаки нарушения минерализации (рост доли железа, фосфора, снижение кальций-фосфорного потенциала, увеличение доли золы), которые делают кость более хрупкой и рассматриваются как проявления остеопороза [2, 12].

ПГ, синтезируемые остеобластами, представляют собой высокомолекулярные соединения с агрегированной структурой. Поскольку ПГ с низ-

кой молекулярной массой на картине электрофорезаграммы не видны (см. рис. 2), то мы предполагаем, что они являются остатками разрушенных или поврежденных лизосомальными протеиназами остеокластов высокомолекулярных ПГ. Таким образом, при развитии остеопороза у крыс OXYS возрастает количество УК и С-ГАГ в разрушенных ПГ (см. рис. 5, а, б). Такие результаты вполне укладываются в современные представления и подтверждают, что остеопороз — дегенеративное заболевание костной ткани, при котором происходит активное разрушение органической составляющей костного матрикса [6, 9].

Выводы

Независимо от этиологии, для прогноза развития остеопороза принципиальное значение имеют две детерминанты: пик костной массы и скорость последующего ее снижения, которые находятся под влиянием большого количества факторов [1, 6]. Сравнение динамики изменения с возрастом МПКТ свидетельствует о том, что крысы OXYS отличаются от крыс Wistar, прежде всего, не повышенной скоростью снижения костной массы, а ее низкими пиковыми значениями. В основе процесса лежит нарушение баланса двух составляющих, участвующих в формировании и поддержании постоянства пика костной массы, — синтеза внеклеточного матрикса и его резорбции—деградации. Как показали наши исследования, развитие генетически детерминированного раннего остеопороза

у крыс OXYS происходит на фоне высокой интенсивности ремоделирования, связанной с усиленным синтезом ПГ и их активным разрушением.

Литература

1. Беневоленская Л. И. Руководство по остеопорозу. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003.
2. Колосова Н. Г., Куторгин Г. Д., Сафина А. Ф. Особенности минерализации костной ткани преждевременно стареющих крыс OXYS // Бюл. экспер. биол. 2002. № 133. С. 203–206.
3. Косягин Д. В. Фракционирование гликозаминогликанов мочи этанолом, их очистка и исследование // Лаб. дело. 1989. № 8. С. 34–36.
4. Косягин Д. В., Василенко Ж. Б. Осаждение гликозаминогликанов мочи солью алифатических оснований аммония и их очистка // Лаб. дело. 1988. № 2. С. 57–59.
5. Фаламеева О. В., Садовой М. А., Храпова Ю. В., Колосова Н. Г. Структурно-функциональные изменения костной ткани позвоночника и конечностей крыс OXYS // Хирургия позвоночника. 2006. Т. 1. С. 88–94.
6. Цыган Е. Н., Деев П. В. Морфофункциональные основы остеопороза. СПб.: ВМедА, 2005.
7. Bjornsson S. Simultaneous preparation and quantitation of proteoglycans by precipitation with alcian blue // *Analyt. Biochem.* 1993. Vol. 210. P. 292–298.
8. Chen X.-D., Fisher L. W., Robey P. G., Young M. F. The small leucine-rich proteoglycan biglycan modulates BMP-4-induced osteoblast differentiation // *FASEB.* 2004. № 18. P. 948–958.
9. Downey P. A., Siegel M. I. Quantification and characterization of glycosaminoglycans at the nanogram level by a combined azure A-silver staining in agarose gels // *Physiol. Ther.* 2006. Vol. 86. P. 77–91.
10. Funderburgh J. L. Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function // *Glycobiol.* 2000. Vol. 10. P. 951–958.
11. Funderburgh J. L., Corpuz L. M., Roth M. R. et al. Mirnekan, the 25-kDa corneal keratan sulfate proteoglycan, is a product of the gene producing osteoglycin // *Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 28089–28095.
12. Gonchar A., Kolmogorov U., Gladkikh E. et al. The estimation of possibilities of synchrotron radiation X-ray fluorescent analysis and atomic spectrometry for the bone's elemental composition determination // *Nucl. Instr. Method. Phys. Res.* 2005. Vol. A 543. P. 271–273.
13. Iozzo R. V. Proteoglycans structure, biology, and molecular interactions. New-York: Marcel Dekker Inc., 2000.
14. Jong J. G. N., Wevers R. A., Laarakkers C., Poorthuis J. H. M. Dimethylmethylene blue-based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: a rapid screening procedure for mucopolysaccharidoses // *Clin. Chem.* 1989. Vol. 35. P. 1472–1477.
15. Lamoureux F., Baud'huin M., Duplomb L. et al. Proteoglycans: key partners in bone cell biology // *Bioessays.* 2007. Vol. 29. P. 758–771.
16. Nielsen K. L., Allen M. R., Bloomfield S. A. et al. Biglycan deficiency interferes with ovariectomy-induced bone loss // *Bone Miner. Res.* 2003. № 18. P. 2152–2158.
17. Peacock M., Turner C. H., Econs M. J., Foroud T. Genetics of osteoporosis // *Endocr. Rev.* 2002. Vol. 23. P. 303–326.
18. Pins C. D., Christiansen D. L., Patel R., Silver F. H. Self-assembly of collagen fibers. Influence of fibrillar alignment and decorin on mechanical properties // *Biophys.* 1997. Vol. 73. P. 2164–2172.
19. Selent J., Kaleta J., Li Z. et al. Selective inhibition of the collagenase activity of cathepsin K // *Biol. Chem.* 2007. № 282. P. 16492–16501.
20. Susheella A. K., Jha M. Cellular and histochemical characteristics of osteoid formed in experimental fluoride poisoning // *Toxicol. Lett.* 1983. Vol. 16. P. 35–40.
21. Van de Lest C. H. A., Versteeg E. M. M., Veerkamp J. H., Van Kuppevelt T. H. Quantification and characterization of glycosaminoglycans at the nanogram level by a combined azure A-silver staining in agarose gels // *Analyt. Biochem.* 1994. Vol. 221. P. 356–361.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 285–291

K. I. Ershov², T. V. Rusova¹, O. V. Falameeva¹, M. A. Sadovoy¹, R. I. Aizman², N. G. Kolosova³

BONE MATRIX GLYCOSAMINOGLYCANS AND OSTEOPOROSIS DEVELOPMENT IN EARLY AGING OXYS RATS

¹ Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, 17 ul. Frunze, Novosibirsk 630091; ² Novosibirsk State Pedagogical University, 28 Vilyujskaya ul., 28, Novosibirsk 630126, e-mail: ershov_k@bk.ru; ³ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, 10 pr. Lavrentieva, Novosibirsk 630090

Proteoglycans play a crucial role in bone tissue formation promoting consolidation of collagen fibers and bonds between them and mineral crystals. The composition of extracellular matrix proteoglycans was analyzed in early aging OXYS rats with signs of early osteoporosis versus Wistar rats at the age of 2, 4, 6, and 8 months. It was found that bone mineral density in two month OXYS rats was lower than in age-matched Wistar rats. It increased only till 6 month of age in OXYS rats, and during the whole observation period in Wistar rats. Formation of peak bone mass in Wistar rats was accompanied by change in composition of proteoglycan pools in bone tissue matrix: accumulation of macromolecular keratan sulfate-containing proteoglycans, and decrease of uronic acid and sulfated glycosaminoglycan content. OXYS rats were noted for accumulation of micro- and macromolecular proteoglycans: uronic acids and sulfated glycosaminoglycans. Chondroitin sulfate AC and dermatan sulfate were accumulated in OXYS rat bone tissue with the increase in mineral density difference. Keratin sulfate was completely absent here, in contrast to Wistar rats.

Key words: osteoporosis, proteoglycans, glycosaminoglycans, extracellular matrix, OXYS rats

Т. Ю. Реброва, С. А. Афанасьев, О. Д. Медведева

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ПОСТИНФАРКТНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ

Научно-исследовательский институт кардиологии Томского научного центра СО РАМН, Россия, 634012 Томск,
ул. Киевская, 111-а; e-mail Rebrova@cardio.tsu.ru

В работе представлены результаты исследования системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) у крыс 4 и 12 мес на фоне постинфарктного кардиосклероза. Показано, что в отдаленные сроки после экспериментального инфаркта миокарда наблюдали возрастзависимое изменение активности ПОЛ и антиокислительных ферментов. Также выявлено различие в выраженности процессов ПОЛ у интактных животных данных возрастных групп. Такие возрастные особенности, возможно, обуславливают разную интенсивность ПОЛ и состояние антиоксидантной защиты при постинфарктном ремоделировании сердца.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, постинфарктный кардиосклероз, возрастной аспект

Сохранение насосной функции сердца после инфаркта миокарда во многом зависит от того, как будет протекать процесс постинфарктного ремоделирования сердца [14]. В то же время установлено, что тяжесть клинического течения инфаркта миокарда прямо коррелирует с показателями, отражающими активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови больных [7, 12, 13]. При этом, повреждающее влияние ПОЛ на клетки сердечной мышцы убедительно показано как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях. Ранее мы показали, что повышенная активность ПОЛ в миокарде и сыворотке крови животных сохраняется и в отдаленные сроки после инфаркта миокарда [16]. Можно ожидать, что этот фактор окажет значимое влияние на постинфарктное ремоделирование сердца, при этом его роль у молодых и стареющих организмов может быть неравнозначной.

Целью настоящего исследования явилось изучение интенсивности процессов ПОЛ и активности антиокислительных ферментов в сыворотке крови молодых и старых крыс при ремоделировании сердца после экспериментального инфаркта миокарда.

Материалы и методы

Исследования были выполнены на 40 самцах крыс линии Wistar двух возрастных групп: 1-я — 10 опытных и 10 интактных 4-месячных животных массой 200–250 г; 2-я — такое же количество опытных и интактных 12-месячных крыс и массой 400–450 г. Опытным животным обеих групп моделировали инфаркт миокарда, проводя коронароокклюзию в области верхней трети левой коронарной артерии [16, 18]. В течение 45 сут после коронароокклюзии у опытных животных формировался постинфарктный кардиосклероз (ПИКС) [16]. Животных всех групп умерщвляли путем декапитации. Забор крови производили в охлажденную пробирку, пробы крови центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученную сыворотку разливали на аликвоты и хранили в жидком азоте до момента исследования.

Активность ПОЛ в сыворотке крови оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК). Содержание МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [8]. Уровень ДК оценивали спектрофотометрически в гексановых экстрактах [17]. О состоянии антиоксидантной системы судили по активности антиокислительных ферментов каталазы [5] и супероксиддисмутазы (СОД) [1].

Для оценки достоверности различий полученных данных использовали ранговый критерий Манна—Уитни и критерий Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что интактные животные рассматриваемых возрастных групп различались по интенсивности протекания процессов ПОЛ. Так, согласно данным, представленным на *рис. 1*, при-

сутствие ДК в сыворотке крови интактных животных 1-й группы было выше, чем у животных 2-й группы. Выявленное различие составило не менее 20%. Однако при оценке присутствия в сыворотке МДА (рис. 2) столь значимых различий выявлено не было. Полученные данные позволяют уверенно говорить о том, что уже в интактном состоянии животные рассматриваемых возрастных групп характеризовались разной активностью ПОЛ. Поскольку мы не получили большого различия по значениям МДА, можно предположить, что увеличение наработки продуктов ПОЛ не является реакцией на острое воздействие, а, скорее всего, обусловлено возрастными особенностями животных. В этом случае активные процессы перекисидации липидов могут происходить в мембранах форменных элементов крови, в частности эритроцитов. Представляется вполне логичным, что повышенная активность ПОЛ должна повлиять на состояние эндогенной антиокислительной системы.

Для проверки этого предположения мы исследовали активность антиокислительных ферментов СОД и каталазы. Было установлено, что у интактных животных (таблица) старшей возрастной группы активность этих ферментов достоверно отличалась от значений, полученных в 1-й группе. При этом, различие в активности ферментов было разнонаправленно, активность СОД оказалась почти в 5 раз ниже, а активность каталазы, напротив, выше более чем в 2 раза. Выявленные различия вполне согласуются с нашим предположением. Повышенная активность каталазы указывает на то, что в организме животных старшей возрастной группы эндогенная антиокислительная система сохраняет компенсаторный резерв. Полученные результаты хорошо согласуются с данными других исследователей, показавших, что в крови животных в возрасте от 3 до 30 мес происходит снижение активности СОД [2], при этом авторы работы отмечали повышение каталазной активности крови [2, 15].

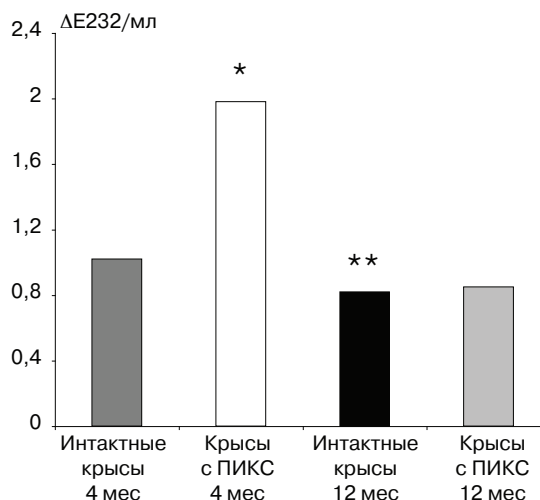


Рис. 1. Уровень ДК в экстрактах сыворотки крови крыс 4 и 12 мес

Здесь и на рис. 2: * $p < 0,05$ — уровень достоверности различий между интактными крысами и крысами с ПИКС в соответствующей возрастной группе; ** $p < 0,05$ — уровень достоверности различий между группами интактных крыс 4 и 12 мес

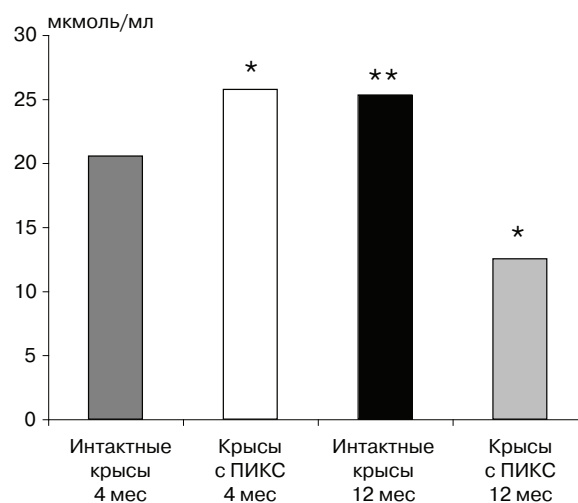


Рис. 2. Концентрация МДА в сыворотке крови крыс 4 и 12 мес

Активность антиокислительных ферментов в сыворотке крови крыс 4 и 12 мес, $\bar{X} \pm x$

Показатель	Интактные крысы 4 мес, n=10	Крысы 4 мес с ПИКС	Интактные крысы 12 мес, n=10	Крысы 12 мес с ПИКС
Каталаза, мккат/л	19,5±5,38	15,4±5,82 $p_1 < 0,05$	41,3±2,95 $p_2 < 0,05$	26,7±3,33 $p_1 < 0,05$
Супероксиддисмутаза, моль/мин·л	0,82±0,002	0,087±0,0004 $p_1 < 0,05$	0,153±0,039 $p_2 < 0,05$	0,087±0,0004 $p_1 < 0,05$

Примечание. p_1 — достоверность различий между интактными крысами и крысами с ПИКС в соответствующей возрастной группе; p_2 — достоверность различий между группами интактных крыс 4 и 12 мес

Активация ПОЛ и угнетение активности антиоксидательных ферментов хорошо описаны при экспериментальном инфаркте миокарда [3]. В нашем исследовании присутствие продуктов ПОЛ в образцах сыворотки крови животных 1-й и 2-й групп через 45 сут после инфаркта миокарда существенно различалось (см. рис. 1, 2). Так, у животных 1-й группы было зафиксировано повышенное содержание МДА и, особенно, ДК. Изменения этих показателей у животных старшей возрастной группы были противоположны. Для них было характерно сниженное содержание МДА при отсутствии значимых изменений в концентрации ДК. Сопоставление полученных результатов позволяет сказать, что в этот период ремоделирования миокарда у животных 1-й группы мы выявляем не остаточные явления активации ПОЛ в ответ на ишемию миокарда, а фиксируем активно протекающий процесс, тогда как у животных 2-й группы к 45-м суткам иницирующее влияние на ПОЛ ишемической травмы миокарда практически нивелировано. Однако анализ результатов, полученных при оценке активности антиоксидательных ферментов, показал, что это состояние достигается значительным истощением резервов эндогенной антиоксидантной системы, в результате чего активность СОД снижается на 43 %, а каталазы — на 35 %. У молодых животных также выявлено изменение показателей антиоксидательной системы, свидетельствующее о ее напряжении. Однако выраженность этих изменений была иной. Так, в постинфарктном периоде активность каталазы наиболее значимо снизилась у животных 2-й группы, тогда как у животных 1-й группы наиболее выражено изменилась активность СОД. При этом, можно сказать, что каталаза, видимо, сохраняет свой антиоксидантный потенциал, особенно у животных 2-й группы, где ее активность на этом сроке исследования остается в 1,7 раза выше, чем у животных 1-й группы. Абсолютные значения активности СОД в обеих группах оказались равными и составили, в среднем, 0,087 ммоль/мин·л. Это обстоятельство позволяет предположить, что резерв СОД как компонента эндогенной антиоксидательной системы, видимо, полностью исчерпан и для его восстановления может потребоваться значительное время, а возможно — и соответствующее терапевтическое воздействие.

Согласно существующим представлениям, увеличение продуктов ПОЛ в сыворотке крови после инфаркта миокарда может быть обусловлено целым рядом факторов: 1) их образование по периферии

участка ишемии и инфаркта перфузируемой прооксидантной зоны [6]; 2) прооксидантное действие адреналина, накапливающегося в зоне ишемии [9]; 3) снижение активности антиоксидантных ферментов в зоне ишемии [4, 9]; 4) снижение резистентности ишемизированной ткани к иницированию накопления в ней перекисей свободнорадикального окисления [6, 7, 11].

Совокупность этих факторов дает основание считать, что ПОЛ и состояние эндогенной антиоксидантной защиты является значимым компонентом в постинфарктном ремоделировании, в том числе и у животных старших возрастных групп. Это вполне согласуется с нашими ранее опубликованными данными о том, что состояние окислительного стресса сохраняется спустя 45 сут после моделирования инфаркта миокарда [16]. В этом исследовании рассмотрены изменения, развившиеся после первичного инфаркта миокарда; в случае повторного инфаркта изменения могут быть еще более значимы. Выявленные возрастные закономерности, скорее всего, окажутся существенными и для человека. Это предположение представляется вполне оправданным с учетом ранее полученных нами данных об изменении пула эндогенных жирорастворимых антиоксидантов в мембранах кардиомиоцитов пациентов с хронической ишемической болезнью сердца [10].

Выводы

Проведенные исследования показали, что в отдаленные сроки после экспериментального инфаркта миокарда наблюдается возрастзависимое изменение активности ПОЛ и эндогенных антиоксидантных ферментов каталазы и СОД, причем различие в выраженности интенсивности процессов ПОЛ и активности антиоксидательных ферментов проявляется уже у интактных животных разного возраста. После инфаркта миокарда происходит стойкое подавление активности СОД. Выявленные возрастные различия могут обуславливать разную интенсивность ПОЛ и состояние антиоксидантной защиты в отдаленном периоде после инфаркта миокарда и постинфарктного ремоделирования сердца. Восстановление активности эндогенных антиоксидантов, и в частности СОД, в постинфарктном периоде может потребовать фармакологической поддержки.

Литература

1. Брусов О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюл. exper. биол. 1976. № 1. С. 33–34.
2. Воскресенский О. Н., Жутаев И. А., Бобырев В. Н., Безуглый Ю. В. Антиоксидантная система, онтогенез и старение // Вопр. мед. химии. 1982. № 1. С. 14–27.
3. Гуткин Д. В., Петрович Ю. А. Активность антиоксидантных ферментов миокарда при его ишемии // Бюл. exper. биол. 1982. № 1. С. 33–35.
4. Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Шергин С. М. Окислительный стресс. Диагностика, терапия, профилактика. Новосибирск, 1993.
5. Каралюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
6. Коган А. Х., Кудрин А. Н., Кактурский Л. В., Лосев Н. И. Свободнорадикальные перекисные механизмы патогенеза ишемии и инфаркта миокарда и их фармакологическая регуляция // Пат. физиол. 1992. № 2. С. 5–15.
7. Коган А. Х., Сыркин А. Л., Дриницина С. В. и др. Кислородные свободнорадикальные процессы в патогенезе ишемической болезни сердца и перспективы применения антиоксиданта Q10 (убихинона) для их коррекции // Кардиология. 1997. № 12. С. 67–73.
8. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8–10.
9. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беленков Ю. И. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. 2000. № 7. С. 48–61.
10. Лебедев А. В., Афанасьев С. А., Алексеева Е. Д. Влияние возраста и ишемии на уровень липоперекисей и липи-

драстворимых антиоксидантов в сердце человека // Бюл. exper. биол. 1995. № 6. С. 584–586.

11. Лемешко В. В., Никитченко Ю. В., Свич И. В., Овсянников С. Е. Перекисное окисление липидов биомембран и его ферментативная регуляция при старении крыс // Укр. биохим. журн. 1987. Т. 59. № 2. С. 50–57.
12. Лешинский Л. А., Логачева И. В., Родионов А. Н. и др. Эналаприл малеат и α -токоферол в лечении и реабилитации больных инфарктом миокарда // Кардиология. 1998. № 11. С. 18–23.
13. Меерсон Ф. З., Малышев И. Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. М.: Наука, 1993.
14. Никитин Н. П., Аляви А. Л., Голоскокова В. Ю., Маджитов Х. Х. Особенности процесса позднего ремоделирования сердца у больных, перенесших инфаркт миокарда, и их прогностическое значение // Кардиология. 1999. № 1. С. 54–58.
15. Обухова Л. К. Вклад академика Н. М. Эмануэля в развитие отечественной геронтологии: свободнорадикальные механизмы в процессе старения // Успехи геронтол. 1999. Вып. 3. С. 27–31.
16. Реброва Т. Ю., Кондратьева Д. С., Афанасьев С. А. Активность перекисного окисления липидов и функциональное состояние миокарда при ремоделировании сердца крыс после экспериментального инфаркта // Кардиология. 2007. № 6. С. 41–45.
17. Bolland I. L., Koch H. P. The course of antioxidant reaction in polyisoprenes and allied compounds. Part IX. The primary thermal oxidation product of ethyl linoleate // J. Chem. Soc. 1945. Vol. 7. P. 445.
18. Gomez A. M., Guatimosim S., Dilly K. W. et al. Heart failure after myocardial infarction: altered excitation — contraction coupling // Circulation. 2001. Vol. 6. P. 688–693.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 292–295

T. Yu. Rebrova, S. A. Afanasjev, O. D. Medvedeva

FEATURES OF LIPID PEROXIDATION IN RATS OF DIFFERENT AGE WITH POSTINFARCTION CARDIOSCLEROSIS

Research Institute for Cardiology, Tomsky Science Centre, SB of RAMS, 111a, ul. Kievskaya, Tomsk 634012, Russia; e-mail Rebrova@cardio.tsu.ru

Results of research of a state of lipid peroxidation (LP) system at rats by age of 4 and 12 months with postinfarction cardiosclerosis are presented in this work. It has been shown, that in the remote terms after an experimental myocardium infarct, age-dependent alteration of the LP and antioxidizing enzymes activity were observed. Also distinction in expressiveness of the LP processes in the intact animals in these age groups was revealed. Such age features probably cause various intensities of the LP and the state of antioxidant protection at postinfarction remodeling of heart.

Key words: *lipid peroxidation, postinfarction cardiosclerosis, age aspect*

С. В. Анисимов

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: III. ПРИМЕНЕНИЕ НЕОНАТАЛЬНЫХ, ФЕТАЛЬНЫХ И ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК*

Институт цитологии РАН, 194064 Санкт-Петербург, пр. Тихорецкий, 4; ФГУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Росмедтехнологий», 197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2; e-mail: askold5@front.ru

Согласно современным представлениям, моторная симптоматика при болезни Паркинсона обусловлена преимущественно гибелью дофаминергических нейронов компактной части черной субстанции головного мозга. В течение последних десятилетий были разработаны и испытаны многочисленные схемы клеточной терапии, основанные на трансплантации донорских клеток (выделенных из эмбриональных и взрослых тканей), использовании мезенхимных, нейральных и эмбриональных стволовых клеток человека. Несмотря на прогресс, достигнутый в данной области, широкому применению основанных на клеточной терапии подходов в лечении болезни Паркинсона препятствует ряд важных факторов. Среди них выделяют как этические, так и технологические факторы, а также риски, связанные с аспектами безопасности клеточной терапии. В предлагаемом вниманию читателей обзоре, публикуемом в четырех частях (Клеточная терапия болезни Паркинсона: I. Трансплантация эмбриональной и взрослой ткани; II. Применение соматических стволовых клеток; III. Применение неонатальных, фетальных и эмбриональных стволовых клеток; IV. Риски и перспективы), предпринята попытка представить сбалансированный, реалистичный взгляд на современное состояние клеточной терапии (в том числе и основанной на стволовых клетках) для лечения болезни Паркинсона. В обзоре рассматриваются особенности индивидуальных типов клеток, технология дифференциации и техника трансплантации, а также ключевые аспекты безопасности клеточной терапии.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, клеточная терапия, стволовые клетки

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) — это начинающееся обычно в пожилом возрасте прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, патогенез которого был подробно рассмотрен в первой части обзора [1]. В отличие от большинства других заболеваний (в том числе нейродегенеративных), значительная часть характерной для БП симптоматики обусловлена поражением единственного типа клеток, локализованных в конкретной ана-

томической структуре (крупных дофаминергических нейронов компактной части черного вещества головного мозга (*substantia nigra pars compacta*); субпопуляция дофаминергических нейронов А9). Соответственно, возмещение потери единственного типа клеток — то есть заместительная клеточная терапия — является весьма привлекательной стратегией при тяжелых формах паркинсонизма (и в первую очередь БП на поздних стадиях). Потенциал заместительной клеточной терапии паркинсонизма и БП был блестяще доказан в ходе работ, основанных на трансплантации в структуры головного мозга больных донорских клеток разных типов: в ряде случаев удалось достичь значимого клинического улучшения, причем эффект сохранялся в течение многих лет после трансплантации. Важнейшим источником клеточного материала для этих трансплантаций стали клетки, выделенные из вентральной части мезенцефалона (среднего мозга) человеческих эмбрионов (материал от терапевтических, реже спонтанных аборт). Однако этические и логистические трудности в значительной степени ограничивают использование этого типа клеточного материала. Большинство других типов клеток донорского происхождения (например, клеток мозгового вещества надпочечников или сонного гломуса) продемонстрировало меньший потенциал, — в некоторых случаях их использование в терапии БП было признано малоперспективным [1]. Как уже обсуждалось в предшествовавших частях обзора, весьма актуальным становится, таким образом, получение альтернативного источника дофаминергических нейронов (или их предшественников). Такой источник должен обладать способностью воспроизведения этих клеток в большом объеме и в пригодной для транспланта-

* Работа поддержана государственным контрактом Министерства образования и науки Российской Федерации № 05.512.11.2219.

дии форме, что позволит освободиться от необходимости использования значительных объемов человеческого abortивного материала. Способность к самовоспроизведению и способность дифференциации в клетки разных типов (в том числе нейроны) являются важнейшими свойствами стволовых клеток. В определенной степени, эти же свойства присущи и коммитированным (то есть определившим направление своей дифференциации) прогениторным клеткам (клеткам-предшественникам), еще не утеревшим способность к ограниченной пролиферации. Так, значительный интерес представляет теоретическая возможность практического применения нейральных стволовых клеток и пролиферирующих нейральных прогениторных клеток, — в том числе и в формате восстановительной клеточной терапии [2]. Еще более многообещающие практические результаты были получены в экспериментах, основанных на применении стволовых клеток костного мозга, — в первую очередь мезенхимных (стромальных) стволовых клеток, являющихся (в отличие от нейральных) весьма доступным клеточным ресурсом. Наконец, в течение нескольких последних лет важнейшим достижением биологии стало получение популяций идуцированных плюрипотентных стволовых клеток из клеток взрослых. Такие клетки способны являться предшественниками глиальных и нейрональных клеток (включая серотонинергические и дофаминергические), что, таким образом, делает их одними из перспективных субстратов клеточной терапии БП.

Тем не менее, ряд факторов заставляет заключить, что соматические стволовые клетки не являются идеальным субстратом клеточной терапии БП. Альтернативой им являются стволовые клетки фетального и эмбрионального происхождения, обладающие, в частности, значительно более выраженной пролиферативной активностью и пластичностью. Параметры таких типов стволовых клеток (в первую очередь, эмбриональных стволовых клеток) в приложении к их потенциалу в терапии БП и обсуждаются в настоящей части обзора.

Неонатальные стволовые клетки

Одним из важнейших достоинств стволовых клеток взрослых является практически полное отсутствие этических препятствий к их изучению и применению в практике, — в том числе и клинической. Так, стволовые клетки костного мозга (СККМ) успешно применяют в клинической практике по широкому ряду показаний в течение

уже нескольких десятков лет. Также значительный потенциал имеет применение в клинике циркулирующих стволовых клеток периферической крови. Следует отметить, что пулы СККМ и периферической крови обладают высокой динамикой, что позволяет, в частности, с успехом проводить так называемую мобилизацию СККМ в периферический кровоток. Менее доступным клеточным ресурсом являются мезенхимные (стромальные) стволовые клетки органов и тканей взрослых, включая мультипотентные взрослые клетки-предшественники, мезенхимные стволовые клетки жировой ткани, периодонта, селезенки, печени, легких, стенок крупных кровеносных сосудов, менструальной крови, а у детей и подростков — и вилочковой железы (у человека в процессе полового созревания она замещается жировой тканью). Меньшей степенью доступности и/или пластичности обладают эпидермальные стволовые клетки (кожи и волосных фолликулов), стволовые и прогениторные клетки других тканей и органов, включая кишечник, ткань почек, костную и хрящевую ткань, поджелудочную железу и т. д. Как уже обсуждалось, часть типов соматических стволовых клеток обладает параметрами, важнейшими для применения их в качестве субстрата клеточной терапии БП, то есть пролиферативной активностью и нейрогенным потенциалом. Однако, помимо тканей и органов взрослых, весьма доступным источником клеток с подобными свойствами являются ткани неонатального происхождения, а именно — пуповинная кровь и Вартонова студень.

Пуповинная кровь является, вероятно, наиболее хорошо изученной нишей стволовых клеток после костного мозга. Наличие в пуповинной крови клеток, обладающих свойствами стволовых, было обнаружено в 80-е гг. XX в., и в 2001 г. были получены первые данные о нейрогенном потенциале стволовых клеток пуповинной крови (СКПК) [57, 64]. Тогда же была впервые показана функциональная активность этих клеток в отношении нейродегенеративных заболеваний (использовали животную модель инсульта) [29]. В течение последующих лет был накоплен огромный объем данных, позволяющий с уверенностью заключить, что в будущем СКПК смогут стать одним из важнейших субстратов клеточной терапии многих заболеваний, включая нейродегенеративные — в первую очередь БП, инсульт и спинномозговую травму (см., например, [22]). В 1988 г. СКПК были впервые использованы для трансплантации, а в 1992 г. в Нью-Йорке (США) был создан первый в мире

«Банк пуповинной крови». И хотя вплоть до настоящего времени стволовые клетки используют в клинической практике, по разным показаниям, лишь эпизодически (по имеющимся сведениям, реципиентами трансплантаций этого типа клеток пока стали менее 2000 человек во всем мире), потенциал ныне многочисленных «Банков пуповинной крови» несомненен.

В нескольких заметных работах была особо отмечена высокая пластичность негемопоэтической (адгезивной, CD34–) фракции СКПК, клетки которой могут быть культивированы *in vitro* в течение весьма высокого числа пассажей без снижения уровней пролиферативной активности и плюрипотентности или без появления нарушений кариотипа [23] и могут эффективно дифференцироваться в клетки-предшественники нейронов (со свойствами нейральных стволовых клеток), производными которых могут являться глиальные клетки (астроциты и олигодендроциты) и нейроны [65]. В последнее время было с определенностью установлено, что нейрогенным потенциалом обладает именно CD133+/CD34– фракция мононуклеарных (однойядерных) клеток пуповинной крови [184].

Две ключевые работы подтверждают возможность направленной дифференциации СКПК в функциональные дофаминергические нейроны. В первой из них двухнедельное культивирование плюрипотентной (негемопоэтической) фракции СКПК в бессывороточной среде привело к экспрессии культивируемыми клетками многих генетических маркеров нейрональных клеток, — в том числе специфических маркеров дофаминергических нейронов и генов, связанных с развитием и дифференциацией этого типа нейронов (включая гены *Engrailed 1* и *2* (*En1*, *En2*), *Nurr1*, *Ptx3*, *Rax2*, *Wnt1* и *Wnt3a*) [51]. Во второй работе культивирование этих же клеток в питательной среде, обогащенной коктейлем специфических ростовых факторов, позволило достичь у их производных не только экспрессии гена *Nurr1* и нескольких других генетических маркеров нейрональных клеток, но и гена тирозингидроксилазы, что было подтверждено данными иммуноцитохимического анализа. Более того, данные высокопроизводительной жидкостной хроматографии подтвердили синтез и секрецию дифференцированными клетками собственно дофамина [59]. Несомненно, следующим ключевым этапом работы с этим типом клеток должно стать проведение экспериментальных трансплантаций с использованием модельных животных.

Немаловажным фактором в оценке терапевтического потенциала пуповинной крови является

то, что она богаче стволовыми клетками, чем даже костный мозг [67], — при сравнимых объемах образца пуповинной крови и аспирата костного мозга, получаемого в ходе однократной пункции. При этом СКПК обладают биологическими свойствами, заметно отличающимися от свойств популяций СККМ, включая гемопоэтические (кроветворные) СККМ. Результаты целого ряда исследований свидетельствуют о более высоком пролиферативном потенциале СКПК по сравнению со СККМ, что позволяет культивировать их в культуре в течение более продолжительного времени [8, 67]. По крайней мере, частично это может быть обусловлено большей длиной теломера СКПК [168]. Интересно, что авторами, по крайней мере, одной работы был сделан прямо противоположный вывод: пролиферативная активность СКПК была сочтена значительно меньшей, чем СККМ [77]. Данное противоречие может, вероятно, быть объяснено гетерогенностью популяции СККМ (содержащей несколько типов стволовых клеток и клеток, обладающих их свойствами, см. [2]): использование в индивидуальных экспериментах разных технологий выделения и культивирования СККМ может оказать значительное влияние на параметры изучаемых клеток. Существуют также сведения, что и популяция СКПК также является гетерогенной [92]; при этом (как уже отмечалось выше) высоким уровнем пластичности обладает именно негемопоэтическая фракция стволовых клеток. Особо важна низкая антигенность СКПК: риск развития реакции отторжения после трансплантации СКПК значительно ниже по сравнению с риском при трансплантации СККМ и их отдельных фракций [18, 91, 140], что резко упрощает подбор донора.

Нельзя недооценивать то обстоятельство, что, в отличие от аспирации костного мозга (чрезвычайно болезненной процедуры, проведение которой связано с риском развития у донора некоторых значимых осложнений), забор пуповинной крови является неинвазивной процедурой и не несет риска для матери или ребенка. Инфицирование пуповинной крови цитомегаловирусом или микобактериями туберкулеза является относительно редким [41, 136]. Более того, поскольку инфицированность новорожденных значительно ниже, чем взрослых, принято считать, что риск развития трансмиссивных инфекций при трансплантации СКПК меньше, чем при трансплантации СККМ [11]; в то же время, существуют и противоречащие этому выводу данные.

Вартонова студень — это эмбриональная соединительная (слизистая) ткань пупочного ка-

натика, окружающая пупочные кровеносные сосуды и выполняющая структурную (опорную) и защитную функции. Имеющий высокое содержание гиалуроновой кислоты, Вартонова студень содержит фибробласты, тучные клетки, гистиоциты (класматоциты) и примитивные мультипотентные стволовые клетки [106]. Эти клетки хорошо пролиферируют *in vitro* и могут быть с относительной легкостью дифференцированы в глиальные клетки и нейроны, в том числе экспрессирующие тирозингидроксилазу — ключевой фермент биосинтеза дофамина [106]. Эти клетки могут быть выделены непосредственно из ткани пупочного канатика (в противном случае, подвергающейся утилизации) в течение 48 ч после родов или кесарева сечения при помощи механической и enzymатической обработки ткани [141, 173] и храниться в течение длительного времени, аналогично СКПК. Чрезвычайно важными являются результаты эксперимента, в ходе которого культивируемые *in vitro* стволовые клетки Вартонова студня человека вводились в полосатое тело (*corpus striatum*) модельных животных (крыс, подвергнутых токсическому действию 6-гидроксидофамина) [173]. При этом, ни в одном случае не происходило развития опухолей в сайте трансплантации, и, несмотря на высокую вариабельность результатов, у части реципиентов наблюдалось улучшение моторных функций. Несмотря на то, что иммуносупрессорная терапия не проводилась, никаких признаков иммунного ответа выявлено не было, что подтверждает сходство антигенных свойств этого типа клеток со СКПК. Следует, однако, отметить, что число введенных клеток было весьма невелико (около 1000), и выжившие донорские клетки не обнаруживались в сайте трансплантации (даже несмотря на наличие у части реципиентов функционального эффекта!), что авторы объясняли дефектами использованной ими хирургической техники [173].

Как уже отмечалось выше, направленная дифференциация культивируемых *in vitro* стволовых клеток Вартонова студня в глиальные клетки и нейроны может быть проведена с относительной легкостью. Так, в одной из работ указывалось, что эффективная индукция нейральной дифференциации культивируемых *in vitro* стволовых клеток Вартонова студня успешно достигается добавлением в питательную среду β -меркаптоэтанола и китайского шалфея (*Salvia miltiorrhiza*; также известен как шалфей краснокорневищный) [96]. В другом исследовании эффективная дифференциация культивируемых *in vitro* стволовых клеток

Вартонова студня в экспрессирующие тирозингидроксилазу клетки была достигнута использованием питательной среды, кондиционированной на первичной культуре нейронов головного мозга крыс, белка *Shh* и фактора роста фибробластов 8 (*Fgf8*) мыши, изоформа *b*. При этом после 9 дней дифференциации до 12,7 % культивируемых клеток экспрессировали тирозингидроксилазу [55]. Важные данные, полученные в этой ключевой работе, свидетельствуют не только о принципиальной возможности получения из клеток Вартонова студня функциональных (способных секретировать дофамин) дофаминергических нейронов, но и о способности таких нейронов выживать в ходе трансплантации в структуры головного мозга и оказывать функциональное действие. В ходе эксперимента в *corpus striatum* модельных животных (крыс, подвергнутых токсическому действию 6-гидроксидофамина) вводили 100 тыс. клеток (производных стволовых клеток Вартонова студня, дифференцированных *in vitro*). Донорские клетки (в том числе экспрессирующие тирозингидроксилазу) выживали в сайте трансплантации в течение длительного времени без изменения фенотипа и мигрировали из сайта трансплантации (на дистанцию до 1,4 мм); при этом у животных-реципиентов наблюдалось значимое и постепенное (эффект развивался в течение 4–5 мес) улучшение моторных функций, частично компенсировавшее имитирующий патогенез БП эффект 6-гидроксидофамина [55].

В важной работе группы тайваньских исследователей (выполнивших трансплантацию 0,5 млн стволовых клеток Вартонова студня в интересах изучения их потенциала в терапии повреждений спинного мозга у модельных животных) было показано, что успешно выживающие в сайте трансплантации в течение длительного времени клетки активно синтезируют такие трофические факторы, как активирующий нейтрофилы белок-2, нейротрофин-3 и основной фактор роста фибробластов, что может в значительной степени обуславливать их функциональный эффект [179].

Таким образом, стволовые клетки Вартонова студня пупочного канатика представляют собой ценный и доступный ресурс, пригодный к применению в качестве субстрата клеточной терапии БП (а возможно, и травм спинного мозга). При этом использование ткани пупочного канатика, подвергающейся утилизации после родов или кесарева сечения, не связано с этическими трудностями, сопровождающими изучение и практическое применение клеток фетального и эмбрионального про-

исхождения. Важно также отметить, что, согласно имеющимся предположениям, слабая иммуногенность этого типа стволовых клеток позволит избежать проведения иммуносупрессорной терапии даже при аллотрансплантациях [172].

Фетальные стволовые клетки

К фетальным стволовым клеткам принято относить собственно фетальные стволовые клетки — ФСК (включая нейральные стволовые клетки (НСК), гемопоэтические и мезенхимные стволовые клетки (ГСК и МСК) фетального костного мозга, фетальной крови, МСК ткани легких, печени, селезенки, панкреатических островков поджелудочной железы, костной ткани плода, а также стволовые клетки ткани нервного гребешка плода), материнские плацентарные стволовые клетки и стволовые клетки амниотической жидкости и амниотической мембраны (внутреннего слоя плодной оболочки). Фетальные ткани богаты клетками, обладающими комплексом свойств, присущих МСК, но имеют важные особенности в отношении экспрессии спектра маркеров плюрипотентности (Oct3/4, Rex1, Nanog и др.) [62]. Изучение этих клеток позволило установить, что, по сравнению с МСК взрослых, фетальные МСК имеют более длинные теломеры и более высокую активность теломеразы и их пролиферативная активность и пластичность выше [25, 27, 28, 63, 105, 109]. Чрезвычайно интересны данные об участии ФСК в регенерации тканей матери [83, 189] и возможности их проникновения через гематоэнцефалический барьер [157]. Дополнительными преимуществами фетальных МСК, по сравнению с МСК взрослых, являются низкий уровень иммуногенности [58] и высокая устойчивость к внешним факторам, определяющая высокую вероятность пережить трансплантационную процедуру и выживать в организме реципиента трансплантации в течение весьма длительного времени [117, 158].

Особенности нейрогенного потенциала фетальных НСК подробно рассмотрены в части I данного обзора (см. [1]); этот потенциал обнаруживается и у других типов ФСК (то есть у клеток, полученных из тканей плода и не являющихся НСК) [52, 113]. Фактически, ФСК могут являться ценным субстратом клеточной терапии многих врожденных и приобретенных заболеваний, включая нейродегенеративные [39]. В то же время, именно безоглядное применение ФСК стало фактором, в значительной степени дискредитировавшим в глазах российской общественности концепцию кле-

точной терапии в целом. Этические аспекты практического применения ФСК (включая фетальные НСК) будут рассмотрены в части IV данного обзора («Риски и перспективы»), но и в данном случае необходимо постулировать необходимость строгого соблюдения законов медицинскими учреждениями любого профиля, производящими работы с человеческим клеточным материалом фетального происхождения. При этом, согласно действующему Приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Минздравсоцразвития России) и Российской академии медицинских наук (РАМН) от 25 мая 2007 г. № 357/40 (зарегистрирован в Министерстве юстиции Российской Федерации 19 июня 2007 г., регистрационный № 9672), перечень органов и (или) тканей человека — объектов трансплантации — ограничивается 9 органами и 19 типами тканей. При этом, право осуществлять забор, заготовку и трансплантацию органов и (или) тканей человека получило лишь ограниченное число поименованных в приложениях к закону учреждений здравоохранения. Применение ФСК должно осуществляться лишь с соблюдением широкого регламента требований, относящихся к аспектам этики и безопасности (см., например, [112]), и по конкретным медицинским показаниям, спектр которых на настоящий момент достаточно ограничен.

Материнские плацентарные стволовые клетки (также известные как «выделенные из плаценты мультипотентные клетки») представляют собой еще один доступный тип клеток, обладающих комплексом свойств, сходных с МСК [7, 73, 78, 175, 182, 187]. При этом, использование клеток плаценты в исследовательских и медицинских целях, в общем, не связано с этическими затруднениями: так, материал человеческой плаценты активно используют в косметологии уже в течение многих лет. Материнским плацентарным стволовым клеткам присуща высокая пролиферативная активность (что делает их экспансию *in vitro* более эффективной, по сравнению с СККМ), и они могут быть дифференцированы в разные типы клеток, в том числе в нейральные [10, 127, 128, 181]. Особый интерес представляют результаты исследования, в ходе которого клетки плаценты были дифференцированы *in vitro* во все три основных типа нейральных клеток (то есть в олигодендроциты, астроциты и нейроны) под воздействием химических (ретиноевая кислота и 1-метил-3-изобутилксантин) факторов и совместного культивирования с клетками головного мозга плода [181].

Стволовые клетки амниотической жидкости впервые были идентифицированы в 2003 г. [74]; позже было показано, что они обладают свойствами мезенхимных (в частности, высоким пролиферативным потенциалом без туморогенности) и превосходят МСК костного мозга по уровню пластичности [42, 86, 124]. Также было обнаружено, что при трансплантации в структуры головного мозга лабораторных животных эти клетки способны выживать и мигрировать, экспрессируя некоторые маркеры нейронов и глиальных клеток [35]. Аналогичный комплекс свойств был продемонстрирован клетками, выделенными из амниотической мембраны [98]. В частности, при трансплантации в фетальный головной мозг лабораторных животных такие клетки выживали в течение длительного времени, мигрировали из сайта трансплантации и демонстрировали некоторые минимальные признаки нейральной трансформации (в частности, экспрессию виментина и нестина) [97]. Авторами последней работы было сделано логичное заключение о том, что в потенциале терапевтический эффект применения амниотических стволовых клеток может быть обусловлен не собственно дифференциацией в нейроны и глиальные клетки, а трофическими свойствами таких клеток [97]. По крайней мере, в одной работе указано также на возможность дифференцировать культивируемые *in vitro* амниотические клетки человека в клетки, экспрессирующие тирозингидроксилазу [188], однако эти результаты пока не получили независимого подтверждения. С другой стороны, весьма интересен потенциал амниотической мембраны в отношении эффективной стимуляции дофаминергической дифференциации культивируемых *in vitro* эмбриональных стволовых клеток [166], основанный на пока не выявленных механизмах (также см. ниже о стромальных клетках).

В заключение данного раздела необходимо еще раз отметить, что, в отличие от собственно ФСК, материнские плацентарные стволовые клетки и стволовые клетки амниотической жидкости могут быть получены после родов или в ходе диагностических процедур (проводимых для ранней диагностики патологии плода) и использованы, в частности, отсроченно в формате аутологичной клеточной терапии. Выраженная пролиферативная активность этих клеток и присущий им высокий уровень пластичности делают эти клетки важными кандидатами для использования в качестве субстратов клеточной терапии (восстановительной или заместительной) нейродегенеративных заболеваний в будущем.

Клетки эмбриональной карциномы

Особым типом клеток со свойствами стволовых являются клетки тератокарциномы — опухоли половых желез, возникающие спонтанно в семенниках, гораздо реже в яичниках. Такие опухоли могут также быть индуцированы у лабораторных животных, например, имплантацией бластоцисты под соединительнотканную капсулу почки. При перевивании в развивающейся опухоли обнаруживают дифференцированные клетки разных тканей [88]. Клетки таких опухолей (более известны как клетки эмбриональной карциномы) могут также быть культивированы *in vitro*, где они активно пролиферируют, образуют трехмерные структуры (эмбрионидные телца) и могут дифференцироваться в функциональные клетки разных типов, теряя при этом пролиферативную активность [48, 100].

Разумеется, практическое применение производных клеток эмбриональной карциномы в качестве субстрата клеточной терапии невозможно. Однако культуры этих клеток в течение многих лет используют в качестве моделей для изучения механизмов пролиферации и дифференциации, чему способствуют относительная простота культивирования клеток эмбриональной карциномы *in vitro* (обычно использование «фидерных» (питательных) клеток не требуется) и гомогенность клеточных популяций. Кроме того, клеткам эмбриональной карциномы в культуре присуща высокая пролиферативная активность (сохраняющаяся в течение многих пассажей), а для некоторых клеточных линий характерен и достаточно высокий уровень пластичности (способность спонтанно или под воздействием разнообразных факторов дифференцироваться в клетки разных типов), см. обзор [163]. В частности, клетки эмбриональной карциномы могут быть эффективно дифференцированы в глиальные клетки и нейроны под воздействием механических (формирование эмбрионидных телец) и химических (ретиноевая кислота) факторов [75, 153]. В течение многих лет отработанные протоколы нейральной/нейрональной дифференциации клеток эмбриональной карциномы с успехом используют в биологии, позволяя идентифицировать факторы, лежащие в основе механизмов пролиферации и дифференциации (в том числе нейральной/нейрональной) стволовых клеток в целом ([40, 102, 108, 126, 131, 151]; см также обзор [130]). В контексте разработки технологии клеточной терапии БП особую ценность представляют работы, нацеленные на получение из клеток эмбриональной карциномы функциональных дофаминергических

нейронов и позволяющие изучить роль отдельных факторов в процессе дифференциации [139, 144, 174]. Также представляет интерес подход, основанный на генетической модификации клеток эмбриональной карциномы с целью придания им нейротрофических свойств (например, за счет синтеза нейротрофического фактора глиальных клеток (*GDNF*) [114]).

Эмбриональные половые клетки

Культура эмбриональных зародышевых клеток (также известных как эмбриональные половые клетки, ЭПК) впервые была получена в 1992 г. *Y. Matsui* из первичных половых клеток генитального тяжа мышей [103]; позже были получены культуры ЭПК человека (чЭПК) [143, 164] и пернатых [123]. Этот тип клеток сходен с эмбриональными стволовыми клетками (ЭСК) по ряду параметров, включая способность к самообновлению и плюрипотентность. Установлено, что ЭПК обладают нейрогенным потенциалом [142, 169], и направленная дифференциация чЭПК *in vitro* позволяет получить клетки, экспрессирующие широкий спектр нейральных/нейрональных маркеров, в том числе и тирозингидроксилазу [120]. При трансплантации нейральных стволовых клеток-производных ЭПК в структуры головного мозга модельных животных, подвергнутых токсическому воздействию хинолиновой (2,3-пиридиндикарбоновой) кислоты, клетки донорского происхождения мигрируют из сайта трансплантации в пораженные участки головного мозга, где дифференцируют в глиальные клетки и нейроны [110]. ЭПК также способны оказывать выраженное нейротрофическое действие *in vivo* при трансплантации модельным животным с диффузным поражением нервной системы [82]. Следует признать, что накопленный объем данных о параметрах нейрогенной дифференциации ЭПК и терапевтическом потенциале этого типа клеток относительно невелик. Тем не менее, несомненное сходство биологических свойств ЭПК со свойствами ЭСК заставляет с серьезностью воспринимать рассуждения о существовании теоретической возможности применения этого типа клеток в терапии нейродегенеративных заболеваний (включая БП) в будущем [15, 155, 165].

Эмбриональные стволовые клетки

Эмбриональные стволовые клетки были впервые получены в 1980 г. из внутренней клеточной массы (ВКМ) поздней стадии (дни эмбриональ-

ного развития от E3–E4 до E5–E6) бластоцисты мышей [49, 99]. ЭСК человека (чЭСК) были впервые получены в 1998 г. *J. Thomson* и соавт. [160], а позже и другими исследовательскими группами [133]. По существующим оценкам, к настоящему времени получено и охарактеризовано свыше 200 линий чЭСК. Большое значение для экспериментальной работы имеет также получение линий ЭСК других лабораторных животных, включая приматов, кроликов, крыс, свиней и др. [72, 116, 161, 171].

Согласно принятым протоколам, чЭСК получают из ВКМ человеческих бластоцист (обычно на этапе, соответствующем дням эмбрионального развития E4–E5), не использованных в ходе курса лечения бесплодия методом экстракорпорального (искусственного) оплодотворения. Вкратце, выделенные из ВКМ клетки культивируются на так называемых питающих (фидерных) клетках в присутствии сыворотки и необходимых ростовых факторов. Широкое распространение получил основанный на применении антибиотиков и факторов комплемента иммунохирургический метод выделения ВКМ, позволяющий разделить бластоцисту и клетки трофоэктодермы [148]. Однако к настоящему времени с успехом используют и другие техники, включая механическую изоляцию ВКМ (микрохирургия при помощи лазерного луча или клеточного ножа) и обработку бластоцист проназой (смесью эндо- и экзопротеиназ, обладающей высокой ферментативной активностью по отношению к белкам), см. [85]. Возможна также селекция бластоцист, спонтанно «вылупившихся» из блестящей оболочки (*zona pellucida*; также известной как «блестящая зона») [69]. Линии чЭСК могут быть с успехом получены и на других этапах эмбрионального развития [143, 152, 154]. Получение линий ЭСК возможно и с использованием метода переноса ядра соматической клетки (*somatic cell nuclear transfer, SCNT*), что было доказано сперва для ЭСК грызунов [81, 111] и приматов [24], а затем и человека [54], однако практическое применение этого метода в значительной степени блокируется прямыми законодательными и этическими запретами.

Как неопровержимо доказано к настоящему времени, ЭСК являются плюрипотентными клетками и способны дифференцироваться в клетки практически любого типа, представленные в организме, включая клетки эктодермального (например, клетки кожи и нервной системы), мезодермального (например, клетки костной и мышечной

ткани) и эндодермального (например, клетки пищеварительной системы, легочной ткани, щитовидной и поджелудочной желез) происхождения. На выдающийся потенциал чЭСК в отношении клеточной терапии неврологических заболеваний указывалось, в частности, в ранних работах *V. E. Reubinoff* и соавт. [132, 133], установивших, что в определенных условиях культивируемые *in vitro* чЭСК способны пролиферировать в течение практически неограниченного времени без утери пластичности (то есть оставаясь недифференцированными). Предполагается, что важнейшей особенностью ЭСК является высокий уровень экспрессии теломеразы, восстанавливающей теломеры после каждой репликации ДНК (то есть после каждого деления), см. [3], и не подвергающейся, таким образом, репликативному старению. Именно способность к практически неограниченной пролиферации *in vitro* и дифференциации в функциональные клетки разных типов (плюрипотентность) и делают ЭСК потенциально неисчерпаемым источником клеточного материала для трансплантаций [119, 145].

Как уже обсуждалось в части I данного обзора [1], с анатомической/патоморфологической точек зрения симптомы БП обусловлены преимущественно дегенерацией дофаминергических нейронов *substantia nigra pars compacta* и потерей их проекции в *corpus striatum*. Согласно данным нескольких исследований, местное микроокружение в *substantia nigra* действительно способно направлять дифференциацию незначительного числа плюрипотентных (недифференцированных) донорских ЭСК в функциональные дофаминергические нейроны ([16]; см. также дискуссию в [12]). В то же время, формирование в сайте трансплантации тератом и тератокарцином (обусловленных неконтролируемой пролиферацией недифференцированных ЭСК) является в таких случаях неизбежным — с понятными фатальными последствиями [17, 47]. Следовательно, абсолютно необходимым этапом разработки технологии клеточной терапии БП, основанной на применении ЭСК, является отработка протокола дифференциации чЭСК в дофаминергические нейроны *in vitro* на этапе, предшествующем трансплантации.

Разработанные к настоящему времени протоколы базируются на трех основных принципах. Первый из них основан на уже обсуждавшейся выше (см. [2]) концепции, заключающейся в индукции экспрессии ключевых генов, контролирующих дифференциацию ЭСК в нейроны/дофаминерги-

ческие нейроны [87, 146]. Второй подход основан на использовании технологии эмбрионидных телц и/или последовательного обогащения питательной среды определенными факторами, способными индуцировать дифференциацию ЭСК в нейроны/дофаминергические нейроны (например, белок *SHH*, факторы роста фибробластов 2 и 8 (*bFGF/FGF2* и *FGF8*, соответственно) и др.) [26, 122, 138, 178, 186]. Третий, весьма широко используемый подход основан на совместном культивировании (кокультивировании, или со-культивировании) чЭСК с клетками, способными индуцировать дифференциацию ЭСК в нейроны/дофаминергические нейроны непосредственно (например, стромальными клетками грызунов или обессмерченными астроцитами среднего мозга) [79, 125, 135, 185], *рис. 1*. Вариантом последнего подхода является использование для дифференциации чЭСК питательных сред, «кондиционированных» на клетках других типов (например, стромальных клеток грызунов или клеток гепатокарциномы человека, линия *HerG2*) [137]. Разумеется, существуют про-

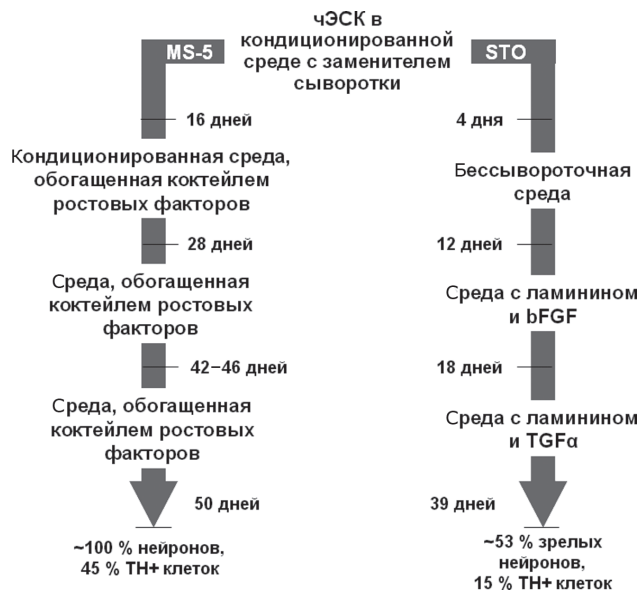


Рис. 1. Основные методические подходы к дифференциации чЭСК в дофаминергические нейроны in vitro: методы, разработанные А. Perrier и соавт. [125] (слева) и S. Park и соавт. [122] (справа). MS-5 (линия стромальных клеток, полученных в области первичной почки) и STO (линия эмбриональных фибробластов мыши), клеточные линии, используемые для ко-культивирования с чЭСК; bFGF, основной фактор роста фибробластов (также FGF2); TGFα, трансформирующий фактор роста α; TH+ клетки, экспрессирующие тирозингидроксилазу клетки

токолы, основанные на сочетанном использовании нескольких принципов [36, 38, 84].

Протоколы, основанные на использовании описанных выше принципов, улучшали и адаптировали в течение многих лет, в результате чего стало возможным обеспечить получение относительно высокого числа функциональных дофаминергических нейронов из плюрипотентных (недифференцированных) чЭСК *in vitro*. При этом «выход» протоколов может достигать 1:100 (получение 100 дофаминергических нейронов из каждой исходной клетки) [125]. В целом, к настоящему времени получение значительного числа функциональных дофаминергических нейронов-производных чЭСК уже не является лимитирующим фактором успеха клеточной терапии БП (в приложении к экспериментальным моделям): некоторые отработанные протоколы способны обеспечить получение из чЭСК требуемого для трансплантации количества клеток, обладающих генетическими (например, экспрессия гена тирозингидроксилазы) и биохимическими (например, активность фермента тирозингидроксилазы, синтез и высвобождение дофамина) свойствами функциональных дофаминергических нейронов. В то же время нельзя не отметить, что все существующие в настоящее время протоколы обладают важными недостатками одного или другого типа. Так, протоколы, основанные на манипуляции с геномом чЭСК, действительно представляют интересные возможности с точки зрения лабораторной практики [5, 87, 118, 146; см. также 60], однако с клинической точки зрения их применение ограничивается важнейшими трудностями этической сферы и безопасности. В частности, нельзя недооценивать существующую возможность дальнейшего возрастания риска развития у реципиентов онкологических осложнений трансплантации производных чЭСК в результате генетической модификации клеток со столь высокой пролиферативной активностью. Протоколы, основанные на последовательном обогащении питательной среды факторами, способными индуцировать нейрональную дифференциацию ЭСК, обычно являются весьма сложными технически, продолжительными и чрезвычайно дорогостоящими. Среди факторов, используемых на определенных этапах дифференциации, следует упомянуть ноггин, эпидермальный фактор роста (*EGF*), факторы роста фибробластов 2 и 8 (*FGF2/bFGF* и *FGF8*, соответственно), белок *SHH*, нейротрофический фактор головного мозга (*BDNF*), нейротрофический фактор глиальных клеток (*GDNF*), трансформирующий

фактор роста $\alpha 3$ (*TGF\alpha 3*), дибутрил-цАМФ (*dbcAMP*) и аскорбиновую кислоту (витамин С) [12, 125, 178]. Многие из этих факторов играют важную роль в дифференциации дофаминергических нейронов *in vivo* и формировании дофаминергической системы среднего мозга в целом. Вполне объяснимо, что сложность продолжительных (длительностью свыше 50 сут), многоэтапных протоколов *in vitro* дифференциации чЭСК во многих случаях определяет неприемлемую качественную и количественную вариабельность итоговых клеточных популяций. В противоположность этому, ко-культивирование чЭСК со стромальными клетками грызунов (например, клетками линий *PA6*, также известной как *MC3T3-G2*, получаемыми из костного мозга плоских костей черепа мышей, и *MS-5*, получаемыми из области первичной почки) позволяет весьма эффективно и в короткие сроки индуцировать их дифференциацию в дофаминергические нейроны. Интересно, что механизмы, обуславливающие способность стромальных клеток грызунов индуцировать дифференциацию ЭСК в дофаминергические нейроны, не раскрыты до сих пор. Результаты ряда экспериментов (в том числе, с полупроницаемыми мембранами, см. [79]) позволяют предположить, что в их основе лежит секреция стромальными клетками в единую для обоих типов клеток питательную среду сложного коктейля специфических факторов, а также экспрессия их на внешней клеточной мембране [79, 177]. Эффект так называемой «индуцирующей активности, ассоциированной со стромальными клетками» (*stromal cell-derived inducing activity, SDIA*), на ЭСК мыши (мЭСК) был впервые описан *H. Kawasaki* и соавт. [79]; позже было подтверждено, что индуцирующая активность, ассоциированная со стромальными клетками, способна обеспечить эффективную дифференциацию в дофаминергические нейроны также ЭСК приматов [80, 107] и человека [125], *рис. 2*. Однако животное происхождение стромальных клеток представляет собой серьезнейшую проблему, ограничивающую фактическое применение протокола в практике терапии БП. В дополнение к факторам, очерченным в I части данного обзора (а именно, риск развития ксенозоонозов, вызванный резидуальными (остаточными), стромальными клетками, контаминирующими трансплантационный материал; [1]), чЭСК и особенно клетки-производные чЭСК способны воспринять из единой со стромальными клетками мышей питательной среды факторы, способные вызвать иммунный ответ реципиента трансплантации [101].

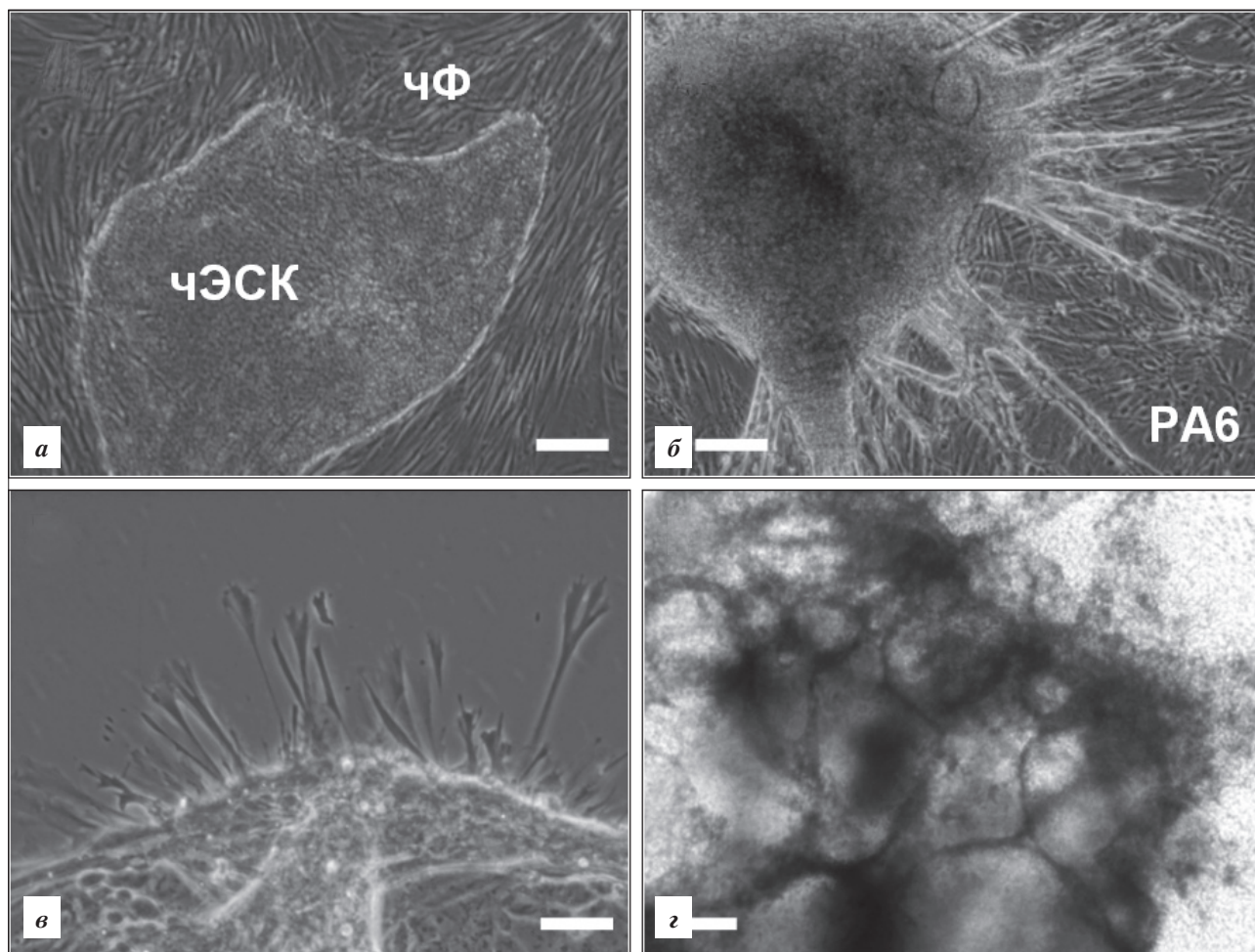


Рис. 2. Недифференцированные чЭСК линии SA002, культивируемые совместно с фибробластами крайней плоти человека (чФ), (а), и стромальными клетками линии RA6 (МСЗТЗ-G2), б–г. В ходе ко-культивирования стромальные клетки запускают дифференциацию чЭСК в функциональные дофаминергические нейроны за счет так называемой «индуцирующей активности, ассоциированной со стромальными клетками» (б, в). Появление отростков нервных клеток на периферии колоний производных чЭСК (г). Характерная компартментализация колонии производных чЭСК (шкала = 100 мкм (а, б, г), 500 мкм (в))

Таким образом, не представляет сомнений необходимость создания протокола, который при сравнительно уровне удобства применения обеспечивал бы возможность получения *in vitro* большого числа функциональных дофаминергических нейронов-производных чЭСК без использования животных клеток. Альтернативой такому подходу может являться очищение итоговой клеточной популяции от животных клеток и человеческих клеток, экспрессирующих животные антигены. В настоящее время научное сообщество прилагает серьезные усилия для модификации и дальнейшего улучшения существующих протоколов *in vitro* дифференциации чЭСК в дофаминергические нейроны, и полученные результаты следует признать весьма многообещающими [9, 71, 156].

Концепция основанной на применении ЭСК технологии заместительной клеточной терапии БП

подтверждается результатами многочисленных экспериментов, в ходе которых экспрессирующие тирозингидроксилазу (дофаминергические) нейроны-производные ЭСК трансплантировали в структуры головного мозга животных моделей БП. Во многих случаях сравнительный анализ демонстрировал значимое улучшение моторных функций реципиентов в послеоперационном периоде. Впервые подобный успех был достигнут в 2002 г., когда использовали клетки, являющиеся производными мЭСК [87]; аналогичные результаты получены в целом ряде независимых исследований (например, [6, 32, 115, 134, 176, 183]). Позже успешный исход экспериментальных трансплантаций был достигнут и с использованием клеток, являющихся производными ЭСК приматов [53, 156]. Результаты гистохимических исследований подтверждали наличие в сайтах эксперименталь-

ных трансплантаций тысяч выживших нейронов, экспрессирующих тирозингидроксилазу. Однако в целом результаты экспериментальных трансплантаций, основанных на использовании клеток, являющихся производными ЭСК человека, оказались или нулевыми, или минимальными: число выживших в сайте трансплантаций экспрессирующих тирозингидроксилазу донорских нейронов каждый раз оказывалось недостаточным для того, чтобы вызвать значимое улучшение моторных функций у модельных животных [17, 121, 137, 185]. Вплоть до недавнего времени, все попытки достичь приемлемого уровня выживаемости дофаминергических нейронов-производных чЭСК в ходе трансплантационной процедуры, их интеграции в структуры головного мозга реципиентов (подразумевающей эффективный синтез и высвобождение дофамина) и соответствующее улучшение моторных функций модельных животных оказывались безуспешными. Лишь в 2006 г. было опубликовано первое сообщение о том, что экспериментальная трансплантация сопровождалась выживанием большого количества дофаминергических нейронов-производных чЭСК, что привело к значимому улучшению моторных функций модельных животных [135]. К сожалению, критическая переоценка использованной авторами исследования методологии позволяет заключить, что сделанный ими вывод основан на ошибочной интерпретации экспериментальных данных [33].

Выраженное несоответствие между результатами экспериментов по трансплантации дофаминергических нейронов-производных ЭСК указывает, таким образом, на особенности именно человеческих клеток (чЭСК). Именно действие этого фактора расценивается как важнейшее препятствие в разработке подходов к основанной на применении чЭСК технологии заместительной клеточной терапии БП. Полагают, что плохая выживаемость человеческих дофаминергических нейронов обусловлена несколькими механизмами, включающими оксидативный стресс, недостаток трофической поддержки клеточного микроокружения в сайте трансплантации, а также аксотомию, вызываемую механической диссоциацией клеток при подготовке клеточного материала к трансплантации (переводе культивируемых *in vitro* клеток в суспензию) [20, 46, 150]. Необходимо особо указать на то, что достижение радикального улучшения выживаемости дофаминергических нейронов-производных чЭСК в ходе трансплантационных процедур является абсолютно необходимым на доклиническом этапе обработки

технологии заместительной клеточной терапии БП. Возможно, что полезным может быть использование подхода, отработанного в ходе трансплантации фетальной нервной ткани, а именно — обработка клеток ингибиторами каспаз, разными антиоксидантами (например, *N*-ацетил-*L*-цистеином, восстановленным глутатионом и лазароидами) и трофическими факторами (например, нейротрофическим фактором глиальных клеток (*GDNF*) и фактором роста фибробластов 2 (*FGF2/bFGF*)) [66, 95, 104, 147; см. также 19, 20]. Потенциал этих и многих других факторов в отношении дофаминергических нейронов-производных чЭСК пока не определен, однако некоторые существующие данные позволяют предположить, что сам принцип может быть вполне работоспособным [30; см. также 36, 38]. Вновь проводя аналогию с результатами, полученными в ходе трансплантации фетальной нервной ткани, можно предположить, что некоторое повышение выживаемости дофаминергических нейронов-производных чЭСК может быть достигнуто совместной их трансплантацией с другими типами клеток, способными оказывать нейронам трофическую поддержку: например, с астроцитами или шванновскими клетками, в том числе генетически модифицированными в интересах повышения секреции ими нейротрофических факторов [93, 162].

Риск перерастания трансплантата и формирования в сайте трансплантации тератомы (опухоли, состоящей из тканей нескольких типов, производных одного, двух или трех зародышевых листков) или нетератомных опухолей представляет собой вторую важнейшую проблему в разработке подходов к технологии заместительной клеточной терапии БП, основанной на применении чЭСК (рис. 3). Разумеется, плюрипотентность — одно из ключевых свойств ЭСК, и возможность этих клеток формировать тератому (при пересадке лабораторным животным) используется как одно из доказательств их плюрипотентности, например при изучении биологических свойств новой линии ЭСК. Соответственно, к формированию тератомы могут привести и резидуальные (остаточные) недифференцированные ЭСК, присутствующие в гетерогенной клеточной популяции, используемой для трансплантации, что будет иметь фатальные последствия для реципиента [16, 17, 47, 137, 149, 159]. В то же время, являющиеся производными ЭСК клетки, сохранившие высокий пролиферативный потенциал, способны привести к формированию в сайте трансплантации опухолей,

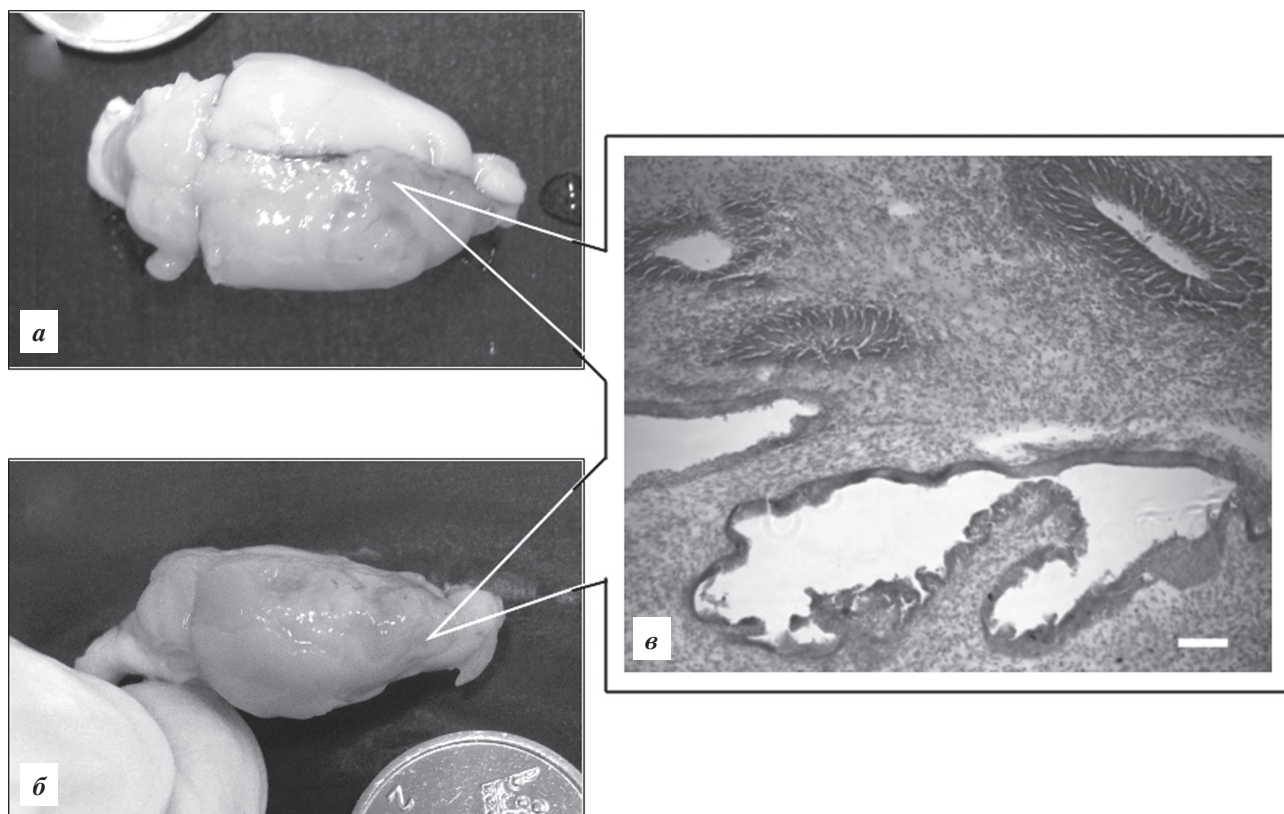


Рис. 3. Развитие тератомы после трансплантации гетерогенной популяции производных чЭСК (16 дней дифференциации) в *corpus striatum* крыс: а — сагиттальная проекция; б — аксиальная проекция; в — микрофотография тератомы с характерными эпителиальными структурами (шкала = 100 мкм)

не являющихся тератомой [135]. Наконец, «коммитированные» клетки, сохраняющие некоторый пролиферативный потенциал после трансплантации, могут привести к «перерастанию транспланта». Гистологически это проявляется обнаружением в сайте трансплантации большего числа клеток донорского происхождения, чем исходное число введенных клеток, а также экспрессией маркеров пролиферативной активности (например, *Ki67*) или инкорпорацией 5-бромдезоксисуридина [17, 43, 53, 137]. С другой стороны, если ЭСК мыши, приматов или человека на предшествующем трансплантации этапе дифференцированы в достаточной степени и используемая для трансплантации популяция не содержит пролиферирующих клеток, формирования тератомы и нетератомных опухолей в сайте трансплантации не наблюдается [9, 17, 80, 87, 121, 137, 156].

Таким образом, исход трансплантации (в аспектах выживания клеток и развития опухолей) прямо зависит от уровня дифференциации используемых клеток-производных ЭСК, что представляет собой трудноразрешимый технологический парадокс. С одной стороны, по сравнению с не-

зрелыми клетками, относительно зрелые дофаминергические нейроны (то есть клетки на высоком уровне дифференциации) являются в значительно большей степени чувствительными к стрессам, неизбежно сопровождающим работу с клетками в ходе трансплантационной процедуры, а также на непосредственно предшествующем ей этапе (подготовка клеточной суспензии) и после трансплантации [19, 71, 121]. Можно предположить, что чистая популяция дофаминергических нейронов является значительно менее устойчивой к подобным стрессам, по сравнению с гетерогенной популяцией, содержащей, в том числе, нейральные клетки других типов, способные оказывать дофаминергическим нейронам некоторую трофическую поддержку. С другой стороны, в случае, если в используемой для трансплантации клеточной популяции содержатся резидуальные клетки с низким уровнем дифференциации, они могут стать причиной возникновения в сайте трансплантации тератомы или нетератомных опухолей с фатальными последствиями для реципиентов. Следовательно, поиск «окна возможности» проведения успешной трансплантации в уровне дифференциации дофами-

нергических нейронов-производных чЭСК (концепция, впервые сформулированная в работах [4] и [37]) является необходимым этапом отработки основанных на применении этих клеток подходов к заместительной клеточной терапии БП (рис. 4). С этой точки зрения, являющиеся производными чЭСК коммитированные предшественники дофаминергических нейронов представляют собой наиболее перспективный субстрат клеточной терапии БП. Согласно имеющимся результатам, вскоре после трансплантации таких клеток в структуры головного мозга модельных животных они прекращают делиться, что позволяет избежать не только развития опухолей, но и перерастания трансплантата [12, 61]. При этом дифференциация коммитированных предшественников дофаминергических нейронов продолжается и в сайте трансплантации (что, вероятно, обусловлено локальным клеточным микроокружением; см. [16]). Достигшие зрелости нейроны и глиальные клетки интегрируют в ткань головного мозга и оказывают функциональное действие, несколько уменьшая выраженность нарушения моторной функций у модельных животных [12]. Чрезвычайно интересно, что в работе К. Sonntag и соавт. для трансплантации была использована популяция производных чЭСК, содержащая экспрессирующие тирозингидроксилазу клетки и обогащенная в отношении предшественников нейронов [149]. Показательно, что исходом трансплантации стало развитие у части модельных животных тератомы, в то время как часть выживших продемонстрировали умеренное, выраженное или почти полное восстановление моторных функций, что сочеталось с обнаружением в трансплантате значительного количества дофаминергических нейронов донорского

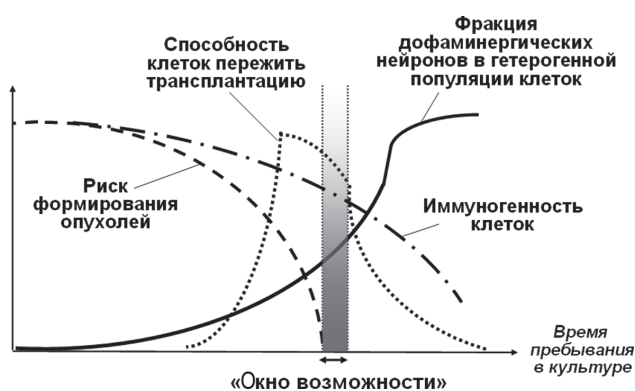


Рис. 4. Балансирование параметров трансплантационного материала (производных чЭСК). Условная схема, иллюстрирующая сложность подбора «окна возможности» проведения успешной трансплантации дофаминергических нейронов-производных чЭСК

происхождения [149]. Аналогично, гетерогенная популяция являющихся производными чЭСК постмитотических дофаминергических нейронов и их коммитированных предшественников была использована в экспериментальной работе D. Yang и соавт. При этом, в непосредственно следующий за трансплантацией период времени наблюдалась массовая гибель экспрессирующих тирозингидроксилазу клеток, однако затем их популяция значимо возросла, что сочеталось с перерастанием трансплантата. В отдаленном периоде у большинства реципиентов наблюдалось значительное улучшение моторных функций, а пролиферативная активность донорских клеток резко снижалась; данные иммуноцитохимического анализа позволили заключить, что донорские нейральные прогениторные клетки (НПК) дифференцировались в глиальные клетки и нейроны [180]. Наконец, трансплантация относительно гомогенной популяции НПК-производных чЭСК модельным животным привела к значимому улучшению у них моторных функций без развития тератомы в независимом исследовании J. Ko и соавт. В то же время, авторы данного исследования связывают достигнутый функциональный эффект с трофическими свойствами НПК, а не с функцией немногочисленных экспрессирующих тирозингидроксилазу нейронов донорского происхождения [89].

В приложении к обрисованной выше ситуации, весьма важным фактором является возможность получения значительного количества НПК из ЭСК (в том числе чЭНК) на «промежуточных» этапах уже отработанных протоколов *in vitro* дифференциации в дофаминергические нейроны. Поскольку существуют сведения о снижении эффективности нейрогенной дифференциации чЭСК, культивируемых в течение продолжительного времени, были отработаны варианты протоколов, предусматривающие сначала получение из чЭСК значительного количества НПК, а затем их экспансию и окончательную дифференциацию [31, 70, 89, 137, 149, 180]. При этом НСК могут быть заморожены и вновь разморожены, не теряя при этом способности дифференцироваться в глиальные клетки и нейроны [70, 89].

Третьим параметром, еще более усложняющим выбор наиболее приемлемой для трансплантации клеточной популяции, является различная иммуногенность клеток на разных этапах дифференциации. Существуют данные, что сами ЭСК являются в значительной степени менее иммуногенными, чем их производные (см. [50]). Так, в отличие от

аллотрансплантации, ксенотрансплантация ЭСК (трансплантация чЭСК в головной мозг мыши) приводит к отторжению трансплантата, а тератома развивалась лишь при трансплантации чЭСК мышам линии *NOD/SCID* [44]. При этом, при трансплантации 1 млн недифференцированных мЭСК в головной мозг мышей наблюдалось выживание клеток с предсказуемым развитием тератомы в сайте трансплантации, а при трансплантации 100 тыс. клеток — отторжение [90]. Предполагается, что механизмы, обуславливающие низкую иммуногенность ЭСК, по сравнению с дифференцированными клетками, основаны на чрезвычайно низком уровне экспрессии белков главного комплекса гистосовместимости класса I (МНС-I) [45]. Сведения о наличии [167] или отсутствии [21] экспрессии на внешней клеточной мембране ЭСК лиганда Fas (FasL) и серпина, что позволяет им модулировать Т-лимфоцитзависимый механизм иммунного ответа, противоречивы. Но, вероятно, существуют и некоторые другие механизмы, отличающие ЭСК от дифференцированных клеток в отношении возможности вызвать иммунный ответ реципиента. Хотя головной мозг считается «иммунологически привилегированной» тканью, неадекватность иммуносупрессорной терапии, проводимой при трансплантации дофаминергических нейронов-производных чЭСК, может привести к развитию иммунной реакции разной степени выраженности и отторжению трансплантата [50]. Таким образом, с точки зрения предупреждения развития иммунной реакции (или осложнений проводимой иммуносупрессивной терапии) выгоднее было бы использовать для трансплантации клетки с минимально приемлемым (с точки зрения риска развития тератомы и собственно способности клеток оказывать физиологический эффект) уровнем дифференциации. Существует несколько принципиальных подходов, позволяющих снизить иммуногенность производных чЭСК. Прежде всего, теоретически возможно создать настолько большее число линий чЭСК, чтобы оказался возможным подбор клеточной линии для индивидуальных кандидатов на трансплантацию производных этих клеток. Разумеется, стоимость реализации этого подхода трудно переоценить; помимо этого, нужно принять во внимание различия в биологических свойствах ЭСК разных линий, в каждом случае заставляющие адаптировать технические протоколы культивирования и дифференциации клеток (см., например, [149]). Другой подход основан на генетической модификации клеток, а именно на

переносе в донорскую бластоцисту (ВКМ которой будет использована для создания линии чЭСК) ядра соматической клетки конкретного кандидата на трансплантацию, что теоретически позволило бы создать «аутологичную» линию чЭСК. Еще один подход основан на применении индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, сходных с ЭСК по пролиферативному потенциалу, пластичности и ряду других ключевых параметров и получаемых путем генетической модификации клеток, которые могут быть аллогенны для кандидата на трансплантацию (см. [2]).

В качестве подхода, альтернативного описанному выше, может быть использовано основанное на разнообразных техниках очищение полученной из чЭСК итоговой клеточной популяции от клеток, обладающих пролиферативным потенциалом. Наиболее логичным в этом отношении является проведение сортировки по экспрессируемым на внешней клеточной мембране известным антигенным маркерам недифференцированных либо, наоборот, дифференцированных клеток (негативная и позитивная селекция, соответственно), см. весьма полный обзор [129]. Для этого может быть использована технология высокопроизводительной проточной цитофлюорометрии [34, 56] либо биомагнитные технологии. Предполагается, что в ближайшем будущем станет доступной технология, основанная на высокопроизводительном сортировке клеток по физическим и оптическим параметрам [94, 170]. Однако использование технологий проточной цитофлюорометрии или магнитного сортировки клеток связано с продолжительным воздействием на клетки большого числа стрессорных факторов разного рода (механических, температурных, химических), что может резко снизить их жизнеспособность [183]. С этой точки зрения, более перспективными являются подходы, основанные на воздействии на клеточные популяции *in situ*, без предварительной диссоциации. Один из таких методов основан на применении синтетического церамида *N*-олеил-серинола (*S18*). Сообщалось, что при использовании опосредованного белком апоптозного ответа простаты-4 (*PAR-4*) механизма этот субстрат способен селективно индуцировать апоптоз в недифференцированных клетках [14]. Согласно опубликованным данным, применение *S18* для обработки гетерогенной клеточной популяции после завершения протокола *in vitro* дифференциации мЭСК приводит к гибели резидуальных недифференцированных мЭСК, но не НПК [13, 14]. Среди предложенных технологий рассматривались также

подходы, основанные на манипуляции с геномом исходной популяции чЭСК: например, использование управляемых генетических конструкций, содержащих так называемые «суицидальные гены», способные при воздействии определенного специфического фактора (антибиотика) запускать механизм клеточной гибели [76]. Предлагалось также повышать специфичность клеточного сортирования за счет использования генетических конструкций, содержащих гены флуоресцентных белков, — в том числе активируемых специфичными для определенных типов клеток ферментами [5, 129]. Крайним случаем применения этого принципа стала генетическая модификация ЭСК мыши с введением кодирующего флуоресцентный белок гена под контроль промотора гена собственно тирозингидроксилазы [68, 183]; впрочем, в данном случае подход оказался малопродуктивным. Необходимо отметить, что, хотя с технологической точки зрения использование подобных подходов может быть практически осуществимым, манипуляции с геномом человеческих клеток (в особенности чЭСК) и в этом случае связаны с уже упоминавшимися аспектами этики и безопасности.

В заключение данного раздела необходимо вновь указать, что, в отличие от большинства других типов стволовых клеток, чЭСК представляют собой возобновляемый и, в значительной мере, неисчерпаемый источник клеточного материала, обладающий высочайшим уровнем пластичности и теоретически пригодный к использованию по широчайшему ряду клинических показаний. Чрезвычайно важно, что эксперименты с трансплантацией дофаминергических нейронов-производных ЭСК мышей и приматов позволили добиться выраженного успеха в экспериментах с использованием модельных животных, что послужило доказательством принципиальной правильности подхода в целом. В этих неоднократно повторенных экспериментах производные ЭСК оказались способны пережить трансплантационную процедуру, интегрировать в существующую систему межнейронных связей структур головного мозга реципиентов и начать осуществлять свою биологическую функцию: синтезировать и секретировать дофамин, значимо снижая выраженность моторной симптоматики модельных животных. Достижение сходных результатов с использованием ЭСК человека является основной целью исследований, проводимых в настоящее время. При этом основными проблемами, специфичными для чЭСК, являются низкая выживаемость дофами-

нергических нейронов-производных чЭСК в сайте трансплантации и риск перерастания трансплантата и развития опухолей в сайте трансплантации, включая тератому. Не вызывает сомнений, что эти и другие проблемы должны быть эффективно решены прежде, чем основанная на применении чЭСК технология заместительной клеточной терапии БП будет использована хотя бы в экспериментальной клинической практике (в формате клинических испытаний). Применение очерченных выше современных высокопроизводительных технологий клеточного сортирования (возможно в сочетании с использованием принципиально иных методов) может сыграть решающую роль в расширении «окна возможности» проведения успешной трансплантации в уровне дифференциации дофаминергических нейронов-производных чЭСК. Можно предположить, что, сочетая этот подход с адаптациями в технологии собственно протоколов *in vitro* дифференциации чЭСК, можно будет получить пригодную для успешной трансплантации клеточную популяцию. Наиболее вероятно, она может быть представлена постмитотическими НПК, являющимися производными чЭСК и коммитированными в отношении дифференциации в дофаминергические нейроны. Такие клетки могут иметь приемлемый уровень выживаемости в сайте трансплантации, не неся при этом риск перерастания трансплантата и развития опухолей (включая тератому).

Литература

1. Анисимов С. В. Клеточная терапия болезни Паркинсона: I. Трансплантация эмбриональной и взрослой ткани // Успехи геронтол. 2008. Т. 21. № 4. С. 575–592.
2. Анисимов С. В. Клеточная терапия болезни Паркинсона: II. Применение соматических стволовых клеток // Успехи геронтол. 2009. Т. 22. № 1. С. 150–166.
3. Оловников А. М. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов // Докл. АН. 1971. Т. 201. С. 1496–1499.
4. Anisimov S. V., Correia A. S., Li J. Y., Brundin P. Being realistic about human embryonic stem cell-based therapy of Parkinson's disease // In: Jankovic J.J., Tolosa E., eds. Parkinson's disease and movement disorders. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. P. 642–652.
5. Aubert J., Stavridis M. P., Tweedie S. et al. Screening for mammalian neural genes via fluorescence-activated cell sorter purification of neural precursors from Sox1-gfp knock-in mice // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100 (Suppl. 1). P. 11836–11841.
6. Baier P. C., Schindehütte J., Thinyane K. et al. Behavioral changes in unilaterally 6-hydroxy-dopamine lesioned rats after transplantation of differentiated mouse embryonic stem cells without morphological integration // Stem Cells. 2004. Vol. 22. № 3. P. 396–404.
7. Bailo M., Soncini M., Vertua E. et al. Engraftment potential of human amnion and chorion cells derived from term placenta // Transplantation. 2004. Vol. 78. № 10. P. 1439–1448.

8. Baksh D., Yao R., Tuan R. S. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow // *Stem Cells*. 2007. Vol. 25. № 6. P. 1384–1392.
9. Barberi T., Klivenyi P., Calingasan N. Y. et al. Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in parkinsonian mice // *Nat. Biotechnol.* 2003. Vol. 21. № 10. P. 1200–1207.
10. Battula V. L., Bareiss P. M., Tremblé S. et al. Human placenta and bone marrow derived MSC cultured in serum-free, b-FGF-containing medium express cell surface frizzled-9 and SSEA-4 and give rise to multilineage differentiation // *Differentiation*. 2007. Vol. 75. № 4. P. 279–291.
11. Behzad-Bebahani A., Pouransari R., Tabei S. Z. et al. Risk of viral transmission via bone marrow progenitor cells versus umbilical cord blood hematopoietic stem cells in bone marrow transplantation // *Transplant. Proc.* 2005. Vol. 37. № 7. P. 3211–3212.
12. Ben-Hur T., Idelson M., Khaner H. et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived neural progenitors improves behavioral deficit in Parkinsonian rats // *Stem Cells*. 2004. Vol. 22. № 7. P. 1246–1255.
13. Bieberich E., MacKinnon S., Silva J. et al. Regulation of cell death in mitotic neural progenitor cells by asymmetric distribution of prostate apoptosis response 4 (PAR-4) and simultaneous elevation of endogenous ceramide // *J. Cell Biol.* 2003. Vol. 162. № 3. P. 469–479.
14. Bieberich E., Silva J., Wang G. et al. Selective apoptosis of pluripotent mouse and human stem cells by novel ceramide analogues prevents teratoma formation and enriches for neural precursors in ES cell-derived neural transplants // *J. Cell Biol.* 2004. Vol. 167. № 4. P. 723–734.
15. Björklund L. M. Stem cell therapy for Parkinson's disease // *Dialogues Clin. Neurosci.* 2004. Vol. 6. № 3. P. 303–311.
16. Björklund L. M., Sanchez-Pernate R., Chung S. et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2002. Vol. 99. № 4. P. 2344–2349.
17. Brederlau A., Correia A. S., Anisimov S. V. et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cells to a rat model of Parkinson's disease: effect of *in vitro* differentiation on graft survival and teratoma formation // *Stem Cells*. 2006. Vol. 24. № 6. P. 1433–1440.
18. Broxmeyer H. E., Gluckman E., Auerbach A. et al. Human umbilical cord blood: A clinically useful source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells // *Int. J. Cell. Cloning*. 1990. Vol. 8 (Suppl 1). P. 76–89.
19. Brundin P., Karlsson J., Emgård M. et al. Improving the survival of grafted dopaminergic neurons: a review over current approaches // *Cell Transplant.* 2000. Vol. 9. № 2. P. 179–195.
20. Brundin P., Pogarell O., Hagell P. et al. Bilateral caudate and putamen grafts of embryonic mesencephalic tissue treated with lazarooids in Parkinson's disease // *Brain*. 2000. Vol. 123. № 7. P. 1380–1390.
21. Brunlid G., Pruszkowski J., Holmes B. et al. Immature and neurally differentiated mouse embryonic stem cells do not express a functional Fas/Fas ligand system // *Stem Cells*. 2007. Vol. 25. № 10. P. 2551–2558.
22. Buzańska L., Jurga M., Domańska-Janik K. Neuronal differentiation of human umbilical cord blood neural stem-like cell line // *Neurodegener. Dis.* 2006. Vol. 3. № 1–2. P. 19–26.
23. Buzańska L., Jurga M., Stachowiak E. K. et al. Neural stem-like cell line derived from a nonhematopoietic population of human umbilical cord blood // *Stem Cells Dev.* 2006. Vol. 15. № 3. P. 391–406.
24. Byrne J., Pedersen D., Clepper L. et al. Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer // *Nature*. 2007. Vol. 450 (7169). P. 497–502.
25. Campagnoli C., Roberts I. A., Kumar S. et al. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow // *Blood*. 2001. Vol. 98. № 8. P. 2396–2402.
26. Carpenter M. K., Inokuma M. S., Denham J. et al. Enrichment of neurons and neural precursors from human embryonic stem cells // *Exp. Neurol.* 2001. Vol. 172. № 2. P. 383–397.
27. Chan J., O'Donoghue K., de la Fuente J. et al. Human fetal mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery // *Stem Cells*. 2005. Vol. 23. № 1. P. 93–102.
28. Chan J., O'Donoghue K., Gavina M. et al. Galectin 1 induces skeletal muscle differentiation in human fetal mesenchymal stem cells and increases muscle regeneration // *Stem Cells*. 2006. Vol. 24. № 8. P. 1879–1891.
29. Chen J., Sanberg P. R., Li Y. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats // *Stroke*. 2001. Vol. 32. № 11. P. 2682–2688.
30. Chiba S., Lee Y. M., Zhou W., Freed C. R. Noggin enhances dopamine neuron production from human embryonic stem cells and improves behavioral outcome after transplantation into Parkinsonian rats // *Stem Cells*. 2008. Vol. 26. № 11. P. 2810–2820.
31. Cho M. S., Lee Y. E., Kim J. Y. et al. Highly efficient and large-scale generation of functional dopamine neurons from human embryonic stem cells // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2008. Vol. 105. № 9. P. 3392–3397.
32. Cho Y. H., Kim D. S., Kim P. G. et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells efficiently induce behavioral recovery in a Parkinsonian rat model // *Biochem. biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 341. № 1. P. 6–12.
33. Christophersen N. S., Brundin P. Large stem cell grafts could lead to erroneous interpretations of behavioral results? // *Nat. Med.* 2007. Vol. 13. № 2. P. 118.
34. Chung S., Shin B. S., Hedlund E. et al. Genetic selection of sox1GFP-expressing neural precursors removes residual tumorigenic pluripotent stem cells and attenuates tumor formation after transplantation // *J. Neurochem.* 2006. Vol. 97. № 5. P. 1467–1480.
35. Cipriani S., Bonini D., Marchina E. et al. Mesenchymal cells from human amniotic fluid survive and migrate after transplantation into adult rat brain // *Cell Biol. Int.* 2007. Vol. 31. № 8. P. 845–850.
36. Correia A. S., Anisimov S. V., Li J. Y., Brundin P. Growth factors and feeder cells promote differentiation of human embryonic stem cells into dopaminergic neurons: a novel role for fibroblast growth factor-20 // *Front. Neurosci.* 2008. Vol. 2. № 1. P. 26–34.
37. Correia A. S., Anisimov S. V., Li J. Y., Brundin P. Stem cell-based therapy for Parkinson's disease // *Ann. Med.* 2005. Vol. 37. № 7. P. 487–498.
38. Correia A. S., Anisimov S. V., Roybon L. et al. Fibroblast growth factor-20 increases the yield of midbrain dopaminergic neurons derived from human embryonic stem cells // *Front. Neuroanat.* 2007. Vol. 1. № 4. P. 1–9.
39. Crombleholme T. M., Langer J. C., Harrison M. R., Zanjani E. D. Transplantation of fetal cells // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 1991. Vol. 164. № 1, Pt. 1. P. 218–230.
40. Darmon M., Bottenstein J., Sato G. Neural differentiation following culture of embryonal carcinoma cells in a serum-free defined medium // *Dev. Biol.* 1981. Vol. 85. № 2. P. 463–473.
41. De Assis R. A., Kerbauy F. R., Rodrigues M. et al. Mycobacterium tuberculosis infection: a rare late complication after cord blood hematopoietic SCT // *Bone Marrow Transplant.* 2008. (In press).
42. De Coppi P., Bartsch G., Siddiqui M. M. et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy // *Nat. Biotechnol.* 2007. Vol. 25. № 1. P. 100–106.
43. Dihné M., Bernreuther C., Hagel C. et al. Embryonic stem cell-derived neuronally committed precursor cells with reduced teratoma formation after transplantation into the lesioned adult mouse brain // *Stem Cells*. 2006. Vol. 24. № 6. P. 1458–1466.
44. Drukker M., Katchman H., Katz G. et al. Human embryonic stem cells and their differentiated derivatives are less susceptible to immune rejection than adult cells // *Stem Cells*. 2006. Vol. 24. № 2. P. 221–229.
45. Drukker M., Katz G., Urbach A. et al. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2002. Vol. 99. № 15. P. 9864–9869.

46. *Emgård M., Hallin U., Karlsson J.* et al. Both apoptosis and necrosis occur early after intracerebral grafting of ventral mesencephalic tissue: a role for protease activation // *J. Neurochem.* 2003. Vol. 86. № 5. P. 1223–1232.
47. *Erdö F., Bührle C., Blunk J.* et al. Host-dependent tumorigenesis of embryonic stem cell transplantation in experimental stroke // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003. Vol. 23. № 7. P. 780–785.
48. *Evans M. J.* The isolation and properties of a clonal tissue culture strain of pluripotent mouse teratoma cells // *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1972. Vol. 28. № 1. P. 163–176.
49. *Evans M. J., Kaufman M. H.* Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos // *Nature.* 1981. Vol. 292 (5819). P. 154–156.
50. *Fairchild P. J., Robertson N. J., Minger S. L., Waldmann H.* Embryonic stem cells: protecting pluripotency from alloreactivity // *Curr. Opin. Immunol.* 2007. Vol. 19. № 5. P. 596–602.
51. *Fallahi-Sichani M., Soleimani M., Najafi S. M.* et al. In vitro differentiation of cord blood unrestricted somatic stem cells expressing dopamine-associated genes into neuron-like cells // *Cell Biol. Int.* 2007. Vol. 31. № 3. P. 299–303.
52. *Fan C. G., Tang F. W., Zhang Q. J.* et al. Characterization and neural differentiation of fetal lung mesenchymal stem cells // *Cell Transplant.* 2005. Vol. 14. № 5. P. 311–321.
53. *Ferrari D., Sanchez-Pernaute R., Lee H.* et al. Transplanted dopamine neurons derived from primate ES cells preferentially innervate DARPP-32 striatal progenitors within the graft // *Europ. J. Neurosci.* 2006. Vol. 24. № 7. P. 1885–1896.
54. *French A. J., Adams C. A., Anderson L. S.* et al. Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts // *Stem Cells.* 2008. Vol. 26. № 2. P. 485–493.
55. *Fu Y. S., Cheng Y. C., Lin M. Y.* et al. Conversion of human umbilical cord mesenchymal stem cells in Wharton's jelly to dopaminergic neurons *in vitro*: potential therapeutic application for Parkinsonism // *Stem Cells.* 2006. Vol. 24. № 1. P. 115–124.
56. *Fukuda H., Takahashi J., Watanabe K.* et al. Fluorescence-activated cell sorting-based purification of embryonic stem cell-derived neural precursors averts tumor formation after transplantation // *Stem Cells.* 2006. Vol. 24. № 3. P. 763–771.
57. *Goodwin H. S., Bicknese A. R., Chien S. N.* et al. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2001. Vol. 7. № 11. P. 581–588.
58. *Gotherstrom C., Ringden O., Tammik C.* et al. Immunologic properties of human fetal mesenchymal stem cells // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 2004. Vol. 190. № 1. P. 239–245.
59. *Greschat S., Schira J., Küry P.* et al. Unrestricted somatic stem cells from human umbilical cord blood can be differentiated into neurons with a dopaminergic phenotype // *Stem Cells Dev.* 2008. Vol. 17. № 2. P. 221–232.
60. *Gropp M., Itsykson P., Singer O.* et al. Stable genetic modification of human embryonic stem cells by lentiviral vectors // *Molec. Ther.* 2003. Vol. 7. № 2. P. 281–287.
61. *Guillaume D. J., Johnson M. A., Li X. J., Zhang S. C.* Human embryonic stem cell-derived neural precursors develop into neurons and integrate into the host brain // *J. Neurosci. Res.* 2006. 84. № 6. P. 1165–1176.
62. *Guillot P. V., De Bari C., Dell'Accio F.* et al. Comparative osteogenic transcription profiling of various fetal and adult mesenchymal stem cell sources // *Differentiation.* 2008. Vol. 76. № 9. P. 946–957.
63. *Guillot P. V., Gotherstrom C., Chan J.* et al. Human first trimester fetal mesenchymal stem cells (MSC) express pluripotency markers, grow faster and have longer telomeres compared to adult MSC // *Stem Cells.* 2006. Vol. 25. № 3. P. 646–654.
64. *Ha Y., Choi J. U., Yoon D. H.* et al. Neural phenotype expression of cultured human cord blood cells *in vitro* // *Neuroreport.* 2001. Vol. 12. № 16. P. 3523–3527.
65. *Habich A., Jurga M., Markiewicz I.* et al. Early appearance of stem/progenitor cells with neural-like characteristics in human cord blood mononuclear fraction cultured *in vitro* // *Exp. Hematol.* 2006. Vol. 34. № 7. P. 914–925.
66. *Hansson O., Castilho R. F., Kaminski Schierle G. S.* et al. Additive effects of caspase inhibitor and lazardol on the survival of transplanted rat and human embryonic dopamine neurons // *Exp. Neurol.* 2000. Vol. 164. № 1. P. 102–111.
67. *Hao Q. L., Shah A. J., Thiemann F. T.* et al. A functional comparison of CD34+ CD38- cells in cord blood and bone marrow // *Blood.* 1995. Vol. 86. № 10. P. 3745–3753.
68. *Hedlund E., Pruszak J., Ferree A.* et al. Selection of embryonic stem cell-derived enhanced green fluorescent protein-positive dopamine neurons using the tyrosine hydroxylase promoter is confounded by reporter gene expression in immature cell populations // *Stem Cells.* 2007. Vol. 25. № 5. P. 1126–1135.
69. *Heins N., Englund M. C., Sjöblom C.* et al. Derivation, characterization, and differentiation of human embryonic stem cells // *Stem Cells.* 2004. Vol. 22. № 3. P. 367–376.
70. *Hong S., Kang U. J., Isacson O., Kim K. S.* Neural precursors derived from human embryonic stem cells maintain long-term proliferation without losing the potential to differentiate into all three neural lineages, including dopaminergic neurons // *J. Neurochem.* 2008. Vol. 104. № 2. P. 316–324.
71. *Iacovitti L., Donaldson A. E., Marshall C. E.* et al. A protocol for the differentiation of human embryonic stem cells into dopaminergic neurons using only chemically defined human additives: Studies *in vitro* and *in vivo* // *Brain Res.* 2007. Vol. 1127. № 1. P. 19–25.
72. *Iannaccone P. M., Taborn G. U., Garton R. L.* et al. Pluripotent embryonic stem cells from the rat are capable of producing chimeras // *Dev. Biol.* 1994. Vol. 163. № 1. P. 288–292.
73. *Igura K., Zhang X., Takahashi K.* et al. Isolation and characterization of mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta // *Cytotherapy.* 2004. Vol. 6. № 6. P. 543–553.
74. *In 't Anker P. S., Scherjon S. A., Kleijburg-van der Keur C.* et al. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation // *Blood.* 2003. Vol. 102. № 4. P. 1548–1549.
75. *Jones-Villeneuve E. M., McBurney M. W., Rogers K. A., Kalnins V. I.* Retinoic acid induces embryonal carcinoma cells to differentiate into neurons and glial cells // *J. Cell Biol.* 1982. Vol. 94. № 2. P. 253–262.
76. *Jung J., Hackett N. R., Pergolizzi R. G.* et al. Ablation of tumor-derived stem cells transplanted to the central nervous system by genetic modification of embryonic stem cells with a suicide gene // *Hum. Genet. Ther.* 2007. Vol. 18. № 12. P. 1182–1192.
77. *Kang T. J., Yeom J. E., Lee H. J.* et al. Growth kinetics of human mesenchymal stem cells from bone marrow and umbilical cord blood // *Acta haematol.* 2004. Vol. 112. № 4. P. 230–233.
78. *Kaviani A., Perry T. E., Barnes C. M.* et al. The placenta as a cell source in fetal tissue engineering // *J. pediatr. Surg.* 2002. Vol. 37. № 7. P. 995–999.
79. *Kawasaki H., Mizuseki K., Nishikawa S.* et al. Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity // *Neuron.* 2000. Vol. 28. № 1. P. 31–40.
80. *Kawasaki H., Suemori H., Mizuseki K.* et al. Generation of dopaminergic neurons and pigmented epithelia from primate ES cells by stromal cell-derived inducing activity // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99 (3). P. 1580–1585.
81. *Kawase E., Yamazaki Y., Yagi T.* et al. Mouse embryonic stem (ES) cell lines established from neuronal cell-derived cloned blastocysts // *Genesis.* 2000. Vol. 28. № 3–4. P. 156–163.
82. *Kerr D. A., Llado J., Shablott M. J.* et al. Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury // *J. Neurosci.* 2003. Vol. 23. № 12. P. 5131–5140.
83. *Khosrotehrani K., Bianchi D. W.* Fetal cell microchimerism: helpful or harmful to the parous woman? // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2003. Vol. 15. № 2. P. 195–199.
84. *Kim D. W., Chung S., Hwang M.* et al. Stromal cell-derived inducing activity, Nurr1, and signaling molecules synergistically induce dopaminergic neurons from mouse embryonic stem cells // *Stem Cells.* 2006. Vol. 24. № 3. P. 557–567.

85. Kim H. S., Oh S. K., Park Y. B. et al. Methods for derivation of human embryonic stem cells // *Stem Cells*. 2005. Vol. 23. № 9. P. 1228–1233.
86. Kim J., Lee Y., Kim H. et al. Human amniotic fluid-derived stem cells have characteristics of multipotent stem cells // *Cell Prolif.* 2007. Vol. 40. № 1. P. 75–90.
87. Kim J. H., Auerbach J. M., Rodriguez-Gomez J. A. et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease // *Nature*. 2002. Vol. 418 (6893). P. 50–56.
88. Kleinsmith L. J., Pierce G. B. Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells // *Cancer Res.* 1964. Vol. 24. P. 1544–1551.
89. Ko J. Y., Park C. H., Koh H. C. et al. Human embryonic stem cell-derived neural precursors as a continuous, stable, and on-demand source for human dopamine neurons // *J. Neurochem.* 2007. Vol. 103. № 4. P. 1417–1429.
90. Koch C. A., Jordan C. E., Platt J. L. Complement-dependent control of teratoma formation by embryonic stem cells // *J. Immunol.* 2006. Vol. 177. № 7. P. 4803–4809.
91. Kögler G., Callejas J., Hakenberg P. et al. Hematopoietic transplant potential of unrelated cord blood: critical issues // *J. Hematother.* 1996. Vol. 5. № 2. P. 105–116.
92. Kögler G., Sensken S., Airey J. A. et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential // *J. exp. Med.* 2004. Vol. 200. № 2. P. 123–135.
93. Krobert K., Lopez-Colberg I., Cunningham L. A. Astrocytes promote or impair the survival and function of embryonic ventral mesencephalon co-grafts: effects of astrocyte age and expression of recombinant brain-derived neurotrophic factor // *Exp. Neurol.* 1997. Vol. 145. № 2, Pt. 1. P. 511–523.
94. Leary J. F. Ultra high-speed sorting // *Cytometry A*. 2005. Vol. 67. № 2. P. 76–85.
95. Love R. M., Branton R. L., Karlsson J. et al. Effects of antioxidant pretreatment on the survival of embryonic dopaminergic neurons *in vitro* and following grafting in an animal model of Parkinson's disease // *Cell Transplant.* 2002. Vol. 11. № 7. P. 653–662.
96. Ma L., Feng X. Y., Cui B. L. et al. Human umbilical cord Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells differentiation into nerve-like cells // *Chin. med. J. (Engl.)*. 2005. Vol. 118. № 23. P. 1987–1993.
97. Marcus A. J., Coyne T. M., Black I. B., Woodbury D. Fate of amnion-derived stem cells transplanted to the fetal rat brain: migration, survival and differentiation // *J. Cell. Mol. Med.* 2008. Vol. 12. № 4. P. 1256–1264.
98. Marcus A. J., Coyne T. M., Rauch J. et al. Isolation, characterization, and differentiation of stem cells derived from the rat amniotic membrane // *Differentiation*. 2007. Vol. 76. № 2. P. 130–144.
99. Martin G. R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 1981. Vol. 78. № 12. P. 7634–7638.
100. Martin G. R., Evans M. J. Differentiation of clonal lines of teratocarcinoma cells: formation of embryoid bodies *in vitro* // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 1975. Vol. 72. № 4. P. 1441–1445.
101. Martin M. J., Muotri A., Gage F., Varki A. Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid // *Nat. Med.* 2005. Vol. 11. № 2. P. 228–232.
102. Martins A. H., Resende R. R., Majumder P. et al. Neuronal differentiation of P19 embryonal carcinoma cells modulates kinin B2 receptor gene expression and function // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. № 20. P. 19576–19586.
103. Matsui Y., Zsebo K., Hogan B. L. Derivation of pluripotent embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture // *Cell*. 1992. Vol. 70. № 5. P. 841–847.
104. Mayer E., Fawcett J. W., Dunnett S. B. Basic fibroblast growth factor promotes the survival of embryonic ventral mesencephalic dopaminergic neurons. II. Effects on nigral transplants *in vivo* // *Neuroscience*. 1993. Vol. 56. № 2. P. 389–398.
105. Mirmalek-Sani A. H., Tare R. S., Morgan S. et al. Characterization and multipotentiality of human fetal femur-derived cells: implication for skeletal tissue regeneration // *Stem Cells*. 2006. Vol. 24. № 4. P. 1042–1053.
106. Mitchell K. E., Weiss M. L., Mitchell B. M. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia // *Stem Cells*. 2003. Vol. 21. № 1. P. 50–60.
107. Mizuseki K., Sakamoto T., Watanabe K. et al. Generation of neural crest-derived peripheral neurons and floor plate cells from mouse and primate embryonic stem cells // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2003. Vol. 100. № 10. P. 5828–5833.
108. Monge J. C., Stewart D. J., Cernacek P. Differentiation of embryonal carcinoma cells to a neural or cardiomyocyte lineage is associated with selective expression of endothelin receptors // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. № 25. P. 15385–15390.
109. Montjovent M. O., Burri N., Mark S. et al. Fetal bone cells for tissue engineering // *Bone*. 2004. Vol. 35. № 6. P. 1323–1333.
110. Mueller D., Shamblo M. J., Fox H. E. et al. Transplanted human embryonic germ cell-derived neural stem cells replace neurons and oligodendrocytes in the forebrain of neonatal mice with excitotoxic brain damage // *J. Neurosci. Res.* 2005. Vol. 82. № 5. P. 592–608.
111. Munsie M. J., Michalska A. E., O'Brien C. M. et al. Isolation of pluripotent embryonic stem cells from reprogrammed adult mouse somatic cell nuclei // *Curr. Biol.* 2000. Vol. 10. № 16. P. 989–992.
112. Mychaliska G. B., Muench M. O., Rice H. E. et al. The biology and ethics of banking fetal liver hematopoietic stem cells for in utero transplantation // *J. pediatr. Surg.* 1998. Vol. 33. № 2. P. 394–399.
113. Nagai A., Kim W. K., Lee H. J. et al. Multilineage potential of stable human mesenchymal stem cell line derived from fetal marrow // *PLoS ONE*. 2007. Vol. 2. № 12. e1272.
114. Nakao N., Yokote H., Nakai K., Itakura T. Promotion of survival and regeneration of nigral dopamine neurons in a rat model of Parkinson's disease after implantation of embryonal carcinoma-derived neurons genetically engineered to produce glial cell line-derived neurotrophic factor // *J. Neurosurg.* 2000. Vol. 92. № 4. P. 659–670.
115. Nishimura F., Yoshikawa M., Kanda S. et al. Potential use of embryonic stem cells for the treatment of mouse parkinsonian models: improved behavior by transplantation of *in vitro* differentiated dopaminergic neurons from embryonic stem cells // *Stem Cells*. 2003. Vol. 21. № 2. P. 171–180.
116. Notarianni E., Laurie S., Moor R. M., Evans M. J. Maintenance and differentiation in culture of pluripotential embryonic cell lines from pig blastocysts // *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1990. Vol. 41. P. 51–56.
117. O'Donoghue K., Chan J., de la Fuente J. et al. Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy // *Lancet*. 2004. Vol. 364 (9429). P. 179–182.
118. O'Shea K. S. Directed differentiation of embryonic stem cells: genetic and epigenetic methods // *Wound Repair Regen.* 2001. Vol. 9. № 6. P. 443–459.
119. Odorico J. S., Kaufman D. S., Thomson J. A. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines // *Stem Cells*. 2001. Vol. 19. № 3. P. 193–204.
120. Pan Y., Chen X., Wang S. et al. In vitro neuronal differentiation of cultured human embryonic germ cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol. 327. № 2. P. 548–556.
121. Park C. H., Minn Y. K., Lee J. Y. et al. In vitro and *in vivo* analyses of human embryonic stem cell-derived dopamine neurons // *J. Neurochem.* 2005. Vol. 92. № 5. P. 1265–1276.
122. Park S., Lee K. S., Lee Y. J. et al. Generation of dopaminergic neurons *in vitro* from human embryonic stem cells treated with neurotrophic factors // *Neurosci. Lett.* 2004. Vol. 359. № 1–2. P. 99–103.
123. Park T. S., Han J. Y. Derivation and characterization of pluripotent embryonic germ cells in chicken // *Molec. Reprod. Dev.* 2000. Vol. 56. № 4. P. 475–482.
124. Perin L., Sedrakyan S., Da Sacco S., De Filippo R. Characterization of human amniotic fluid stem cells and their pluripotential capability // *Methods Cell Biol.* 2008. Vol. 86. P. 85–99.

125. Perrier A. L., Tabar V., Barberi T. et al. Derivation of mid-brain dopamine neurons from human embryonic stem cells // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2004. Vol. 101. № 34. P. 12543–12548.
126. Pfeiffer S. E., Jakob H., Mikoshiba K. et al. Differentiation of a teratocarcinoma line: preferential development of cholinergic neurons // J. Cell Biol. 1981. Vol. 88. № 1. P. 57–66.
127. Poloni A., Rosini V., Mondini E. et al. Characterization and expansion of mesenchymal progenitor cells from first-trimester chorionic villi of human placenta // Cytotherapy. 2008. Vol. 10. № 7. P. 690–697.
128. Portmann-Lanz C. B., Schoeberlein A., Huber A. et al. Placental mesenchymal stem cells as potential autologous graft for pre- and perinatal neuroregeneration // Amer. J. Obstet. Gynec. 2006. Vol. 194. № 3. P. 664–673.
129. Pruszk J., Sonntag K. C., Aung M. H. et al. Markers and methods for cell sorting of human embryonic stem cell-derived neural cell populations // Stem Cells. 2007. Vol. 25. № 9. P. 2257–2268.
130. Przyborski S. A., Christie V. B., Hayman M. W. et al. Human embryonic carcinoma stem cells: models of embryonic development in humans // Stem Cells Dev. 2004. Vol. 13. № 4. P. 400–408.
131. Przyborski S. A., Smith S., Wood A. Transcriptional profiling of neuronal differentiation by human embryonic carcinoma stem cells *in vitro* // Stem Cells. 2003. Vol. 21. № 4. P. 459–71.
132. Reubinoff B. E., Itsykson P., Turetsky T. et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells // Nat. Biotechnol. 2001. Vol. 19 (12). P. 1134–1140.
133. Reubinoff B. E., Pera M. F., Fong C. Y. et al. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation *in vitro* // Nat. Biotechnol. 2000. Vol. 18. № 4. P. 399–404.
134. Rodríguez-Gómez J. A., Lu J. Q., Velasco J. et al. Persistent dopamine functions of neurons derived from embryonic stem cells in a rodent model of Parkinson disease // Stem Cells. 2007. Vol. 25. № 4. P. 918–928.
135. Roy N. S., Cleren C., Singh S. K. et al. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes // Nat. Med. 2006. Vol. 12. № 11. P. 1259–1268.
136. Rubinstein P., Rosenfield R. E., Adamson J. W., Stevens C. E. Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution // Blood. 1993. Vol. 81. № 7. P. 1679–1690.
137. Schulz T. C., Noggle S. A., Palmarini G. M. et al. Differentiation of human embryonic stem cells to dopaminergic neurons in serum-free suspension culture // Stem Cells. 2004. Vol. 22. № 7. P. 1218–1238.
138. Schulz T. C., Palmarini G. M., Noggle S. A. et al. Directed neuronal differentiation of human embryonic stem cells // BMC Neurosci. 2003. Vol. 4. P. 27.
139. Schwartz C. M., Spivak C. E., Baker S. C. et al. NTera2: a model system to study dopaminergic differentiation of human embryonic stem cells // Stem Cells Dev. 2005. Vol. 14. № 5. P. 517–534.
140. Schwinger W., Urban C., Lackner H. et al. Unrelated 5/6-locus matched umbilical cord blood transplantation in a 23-month-old child with hemophagocytic lymphohistiocytosis // Bone Marrow Transplant. 1998. Vol. 22. № 4. P. 393–396.
141. Seshareddy K., Troyer D., Weiss M. L. Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord // Methods Cell. Biol. 2008. Vol. 86. P. 101–119.
142. Shamblo M. J., Axelman J., Littlefield J. W. et al. Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively *in vitro* // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98 (1). P. 113–118.
143. Shamblo M. J., Axelman J., Wang S. et al. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95 (23). P. 13726–13731.
144. Sharma S., Notter M. F. Characterization of neurotransmitter phenotype during neuronal differentiation of embryonic carcinoma cells // Dev. Biol. 1988. Vol. 125 (2). P. 246–254.
145. Sharpless N. E., DePinho R. A. Telomeres, stem cells, senescence, and cancer // J. clin. Invest. 2004. Vol. 113 (2). P. 160–168.
146. Shim J. W., Koh H. C., Chang M. Y. et al. Enhanced *in vitro* midbrain dopamine neuron differentiation, dopaminergic function, neurite outgrowth, and 1-methyl-4-phenylpyridium resistance in mouse embryonic stem cells overexpressing Bcl-XL // J. Neurosci. 2004. Vol. 24 (4). P. 843–852.
147. Sinclair S. R., Svendsen C. N., Torres E. M. et al. GDNF enhances dopaminergic cell survival and fibre outgrowth in embryonic nigral grafts // Neuroreport. 1996. Vol. 7 (15–17). P. 2547–2552.
148. Solter D., Knowles B. B. Immunosurgery of mouse blastocyst // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 1975. Vol. 72 (12). P. 5099–5102.
149. Sonntag K. C., Pruszk J., Yoshizaki T. et al. Enhanced yield of neuroepithelial precursors and midbrain-like dopaminergic neurons from human embryonic stem cells using the bone morphogenic protein antagonist noggin // Stem Cells. 2007. Vol. 25 (2). P. 411–418.
150. Sortwell C. E. Strategies for the augmentation of grafted dopamine neuron survival // Front Biosci. 2003. Vol. 8. s522–532.
151. Stewart R., Christie V. B., Przyborski S. A. Manipulation of human pluripotent embryonic carcinoma stem cells and the development of neural subtypes // Stem Cells. 2003. Vol. 21 (3). P. 248–256.
152. Strelchenko N., Verlinsky O., Kukharensko V., Verlinsky Y. Morula-derived human embryonic stem cells // Reprod. Biomed. Online. 2004. Vol. 9 (6). P. 623–629.
153. Strickland S., Mahdavi V. The induction of differentiation in teratocarcinoma stem cells by retinoic acid // Cell. 1978. Vol. 15. P. 393–103.
154. Suss-Toby E., Gerecht-Nir S., Amit M. et al. Derivation of a diploid human embryonic stem cell line from a mononuclear zygote // Hum. Reprod. 2004. Vol. 19 (3). P. 670–675.
155. Svendsen C. N., Langston J. W. Stem cells for Parkinson disease and ALS: replacement or protection? // Nat. Med. 2004. Vol. 10 (3). P. 224–225.
156. Takagi Y., Takahashi J., Saiki H. et al. Dopaminergic neurons generated from monkey embryonic stem cells function in a Parkinson primate model // J. clin. Invest. 2005. Vol. 115 (1). P. 102–109.
157. Tan X. W., Liao H., Sun L. et al. Fetal microchimerism in the maternal mouse brain: a novel population of fetal progenitor or stem cells able to cross the blood-brain barrier? // Stem Cells. 2005. Vol. 23 (10). P. 1443–1452.
158. Taylor P. A., McElmurry R. T., Lees C. J. et al. Allogenic fetal liver cells have a distinct competitive engraftment advantage over adult bone marrow cells when infused into fetal as compared with adult severe combined immunodeficient recipients // Blood. 2002. 99 (5). P. 1870–1872.
159. Thinyane K., Baier P. C., Schindehütte J. et al. Fate of pre-differentiated mouse embryonic stem cells transplanted in unilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats: histological characterization of the grafted cells // Brain Res. 2005. Vol. 1045 (1–2). P. 80–87.
160. Thomson J. A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S. S. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // Science. 1998. Vol. 282 (5391). P. 1145–1147.
161. Thomson J. A., Kalishman J., Golos T. G. et al. Pluripotent cell lines derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) blastocysts // Biol. Reprod. 1996. Vol. 55 (2). P. 254–259.
162. Timmer M., Muller-Ostermeyer F., Kloth V. et al. Enhanced survival, reinnervation, and functional recovery of intrastriatal dopamine grafts co-transplanted with Schwann cells overexpressing high molecular weight FGF-2 isoforms // Exp. Neurol. 2004. Vol. 187 (1). P. 118–136.
163. Tonge P. D., Andrews P. W. Human Embryonic Carcinoma (EC) Cells: Complementary Tools for Embryonic Stem Cell Research. In: Human Cell Culture. Volume VI: Embryonic Stem Cells. Eds: J.R.Masters, B.O.Palsson, J.A.Thomson. 2007. P. 235–253.

164. Turnpenny L., Brickwood S., Spalluto C. M. et al. Derivation of human embryonic germ cells: an alternative source of pluripotent stem cells // *Stem Cells*. 2003. Vol. 21 (5). P. 598–609.
165. Turnpenny L., Cameron I. T., Spalluto C. M. et al. Human embryonic germ cells for future neuronal replacement therapy // *Brain Res. Bull.* 2005. Vol. 68 (1–2). P. 76–82.
166. Ueno M., Matsumura M., Watanabe K. et al. Neural conversion of ES cells by an inductive activity on human amniotic membrane matrix // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2006. Vol. 103 (25). P. 9554–9559.
167. Utermohlen O., Kronke M. Survival of priceless cells: active and passive protection of embryonic stem cells against immune destruction // *Arch. Biochem. Biophys.* 2007. Vol. 462 (2). P. 273–277.
168. Vaziri H., Dragowska W., Allsopp R. C. et al. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 1994. Vol. 91 (21). P. 9857–9860.
169. Wang J., Jiao F., Pan X. H. et al. Directed differentiation of chick embryonic germ cells into neural cells using retinoic acid induction *in vitro* // *J. Neurosci. Methods*. 2009. Vol. 177 (1). P. 168–176.
170. Wang M. M., Tu E., Raymond D. E. et al. Microfluidic sorting of mammalian cells by optical force switching // *Nat. Biotechnol.* 2005. Vol. 23 (1). P. 83–87.
171. Wang S., Tang X., Niu Y. et al. Generation and characterization of rabbit embryonic stem cells // *Stem Cells*. 2007. Vol. 25 (2). P. 481–489.
172. Weiss M. L., Anderson C., Medicetty S. et al. Immune properties of human umbilical cord Wharton's jelly-derived cells // *Stem Cells*. 2008. Vol. 26 (11). P. 2865–2874.
173. Weiss M. L., Medicetty S., Bledsoe A. R. et al. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease // *Stem Cells*. 2006. Vol. 24 (3). P. 781–792.
174. Wu L. Y., Wang Y., Jin B. et al. The role of hypoxia in the differentiation of P19 embryonal carcinoma cells into dopaminergic neurons // *Neurochem. Res.* 2008. Vol. 33 (10). P. 2118–2125.
175. Wulf G. G., Viereck V., Hemmerlein B. et al. Mesengenic progenitor cells derived from human placenta // *Tissue Eng.* 2004. Vol. 10 (7–8). P. 1136–1147.
176. Xu H., Fan X., Wu X. et al. Neural precursor cells differentiated from mouse embryonic stem cells relieve symptomatic motor behavior in a rat model of Parkinson's disease // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol. 326 (1). P. 115–122.
177. Yamazoe H., Murakami Y., Mizuseki K. et al. Collection of neural inducing factors from PA6 cells using heparin solution and their immobilization on plastic culture dishes for the induction of neurons from embryonic stem cells // *Biomaterials*. 2005. Vol. 26 (28). P. 5746–5754.
178. Yan Y., Yang D., Zarnowska E. D. et al. Directed differentiation of dopaminergic neuronal subtypes from human embryonic stem cells // *Stem Cells*. 2005. Vol. 23 (6). P. 781–790.
179. Yang C. C., Shih Y. H., Ko M. H. et al. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete transection of the rat spinal cord // *PLoS ONE*. 2008. Vol. 3 (10). e3336.
180. Yang D., Zhang Z. J., Oldenburg M. et al. Human embryonic stem cell-derived dopaminergic neurons reverse functional deficit in parkinsonian rats // *Stem Cells*. 2008. Vol. 26 (1). P. 55–63.
181. Yen B. L., Chien C. C., Chen Y. C. et al. Placenta-derived multipotent cells differentiate into neuronal and glial cells *in vitro* // *Tissue Eng. Part A*. 2008. Vol. 14 (1). P. 9–17.
182. Yen B. L., Huang H. I., Chien C. C. et al. Isolation of multipotent cells from human term placenta // *Stem Cells*. 2005. Vol. 23 (1). P. 3–9.
183. Yoshizaki T., Inaji M., Kouike H. et al. Isolation and transplantation of dopaminergic neurons generated from mouse embryonic stem cells // *Neurosci. Lett.* 2004. Vol. 363 (1). P. 33–37.
184. Zangiacomi V., Balon N., Maddens S. et al. Cord blood-derived neurons are originated from CD133+/CD34 stem/progenitor cells in a cell-to-cell contact dependent manner // *Stem Cells Dev.* 2008. Vol. 17 (5). P. 1005–1016.
185. Zeng X., Cai J., Chen J. et al. Dopaminergic differentiation of human embryonic stem cells // *Stem Cells*. 2004. Vol. 22 (6). P. 925–940.
186. Zhang S. C., Wernig M., Duncan I. D. et al. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2001. Vol. 19 (12). P. 1129–1133.
187. Zhang Y., Li C. D., Jiang X. X. et al. Comparison of mesenchymal stem cells from human placenta and bone marrow // *Chin. med. J. (Engl)*. 2004. Vol. 117 (6). P. 882–887.
188. Zheng J. K., Yang L. Y., Xu M. D. et al. Human amnion cells express the phenotypes of neural cells and adipocytes *in vitro* // *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2006. Vol. 37 (5). P. 696–699.
189. Zhong J. F., Weiner L. P. Role of fetal stem cells in maternal tissue regeneration // *Gene Regul. Syst. Biol.* 2007. Vol. 1. P. 111–115.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 296–315

S. V. Anisimov

CELL THERAPY FOR PARKINSON'S DISEASE: III. NEONATAL, FETAL AND EMBRYONIC STEM CELL-BASED APPLICATIONS

Institute of Cytology RAS, 4 Tikhoretskiy Pr., St. Petersburg 194064, Russia; V. A. Almazov Federal Center for Heart, Blood & Endocrinology, 2 Akkuratova Str., St. Petersburg 197341, Russia;
e-mail: askold5@front.ru

Motor dysfunctions in Parkinson's disease are believed to be primarily due to the degeneration of dopaminergic neurons located in the substantia nigra pars compacta. Numerous cell replacement therapy approaches have been developed and tested, including those based on donor cell transplantation (embryonic and adult tissue-derived), adult mesenchymal stem cells (hMSCs)-, neural stem cells (hNSCs)- and finally human embryonic stem cells (hESCs)-based. Despite the progress achieved, numerous difficulties prevent wider practical application of stem cell-based therapy approaches for the treatment of Parkinson's disease. Among the latter, ethical, safety and technical issues stand out. Current series of reviews (Cell therapy for Parkinson's disease: I. Embryonic and adult donor tissue-based applications; II. Adult stem cell-based applications; III. Neonatal, fetal and embryonic stem cell-based applications; IV. Risks and future trends) aims providing a balanced and updated view on various issues associated with cell types (including stem cells) in regards to their potential in the treatment of Parkinson's disease. Essential features of the individual cell subtypes, principles of available cell handling protocols, transplantation, and safety issues are discussed extensively.

Key words: Parkinson's disease, cell therapy, stem cells

Т. В. Харитонова¹, Л. С. Козина², А. Г. Захарчук¹

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

¹ Городской гериатрический медико-социальный центр, 190103 Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, 148; e-mail: geriatric@mail.ru; ² Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3

Артериальная гипертензия (АГ) вносит существенный вклад в формирование хронической сердечной недостаточности и хронической ишемии мозга, что приводит к социальной зависимости гериатрических пациентов. Одним из важных факторов становления АГ является состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ). Дисбаланс между продуктами ПОЛ и компонентами системы антиоксидантной защиты, выявленный при сердечно-сосудистых заболеваниях (главным образом артериальной гипертензии и сердечной недостаточности), приводит к прогрессированию этих заболеваний и ускоренному старению организма. Для нормализации антиоксидантной защиты у больных АГ терапия должна включать пролонгированные β-блокаторы, ингибиторы АПФ, антагонисты кальция, статины и поливитаминные комплексы с витаминами А и Е.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность, перекисное окисление липидов, гериатрия

Сердечно-сосудистая патология доминирует в структуре причин смертности взрослого населения России и составляет 55 % от показателя общей летальности [2]. Главные причины смерти — инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения. Среди пациентов, перенесших мозговой инсульт, 31 % требуют посторонней помощи в повседневной жизнедеятельности и наблюдения, 20 % лишены способности самостоятельно передвигаться и требуют постоянного ухода. Последствия мозгового инсульта ложатся тяжелым экономическим бременем на общество и членов семьи больного [3, 13]. Широкое распространение артериальной гипертензии (АГ) среди лиц пожилого возраста приводит к формированию хронической сердечной недостаточности (ХСН), хронической ишемии мозга (ХИМ), социальной недостаточности и снижению продолжительности жизни этих пациентов [5–8, 14].

В России вопросы лечения АГ требуют особого внимания, что обусловлено высоким удельным весом данной патологии и низкой эффективностью лечебных и профилактических мер у лиц старших

возрастных групп с ассоциированными клиническими состояниями [4–6, 8, 11, 12, 15].

Одним из важных факторов патогенеза АГ является соотношение про- и антиоксидантных процессов — регуляторов интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) на фоне старения и факторов риска сердечно-сосудистой патологии [17, 21–23]. Известно, что в процессе ПОЛ происходит цепная реакция с образованием свободных радикалов токсичных продуктов — кетонов, альдегидов, пероксида водорода и др. [9, 17].

В то же время, в физиологических условиях ПОЛ обладает рядом эффектов, повышающих виталитет: санация зоны повреждения тканей, устранение избытка катехоламинов, участие в микросомальном окислении, обновление липидного слоя клеточных мембран, регуляция проницаемости и трансмембранного транспорта, регуляция дифференциации и деления клеток, продукция простагландинов и лейкотриенов.

В процессе старения и под воздействием патологических факторов (стресс, гипоксия, инфекция, ионизирующая радиация и алкоголь, нарушение питания) происходит резкое усиление ПОЛ [9]. Выходя за рамки физиологического процесса, ПОЛ вызывает деструктивный эффект. В результате, конечные продукты ПОЛ оказывают повреждающий эффект на клеточные мембраны и органеллы, в том числе и митохондрии [21, 23].

На показатели липидного обмена и антиоксидантной защиты оказывает влияние медикаментозная терапия АГ, включающая несколько фармакологических групп [5, 6, 14, 16, 18, 19].

Целью исследования было изучение влияния медикаментозной терапии на показатели липидного обмена, антиоксидантной защиты и некоторые медико-социальные показатели у пожилых больных АГ.

Материалы и методы

Обследованы 134 пациента пожилого возраста, страдающих АГ (из них женщин 94). Средний возраст составил $64,3 \pm 1,7$ года. Пациенты были разделены на группы в зависимости от стадии АГ.

Пациенты с АГ I стадии имели сахарный диабет II типа ($n=22$; средний возраст $61,4 \pm 1,1$ года), стенокардию I и II ФК ($n=19$; $61,9 \pm 1,6$ года).

Пациенты пожилого возраста с АГ II стадии страдали сахарным диабетом II типа ($n=24$; $62,5 \pm 2,5$ года), стенокардией I и II ФК ($n=20$; $63,8 \pm 2,7$ года) и ХСН ($n=27$; $63,3 \pm 2,1$ года).

Пациенты с АГ III стадии имели сахарный диабет II типа ($n=19$; $63,5 \pm 1,7$ года), мозговой инсульт в анамнезе ($n=24$; $64,7 \pm 2,1$ года), стенокардию I и II ФК ($n=32$; $64,1 \pm 2,2$ года). Эти заболевания осложнились развитием ХСН у 29 человек ($65,7 \pm 2,4$ года). Все пациенты этой группы имели ХИМ II или III степени.

Контрольную группу составили 164 человека без артериальной гипертензии, не курившие, с нормальными показателями липидного обмена и достаточной физической активностью. Из них 53 человека от 45 до 50 лет (подгруппа А; средний возраст $47,7 \pm 1,4$ года) и 111 человек пожилого возраста (подгруппа В; средний возраст $64,3 \pm 1,7$ года).

Проведено исследование влияния ингибиторов АПФ, β -блокаторов, антагонистов кальция, тиазидных диуретиков и адельфана на показатели оксидативного стресса у 134 пожилых пациентов с АГ (средний возраст $62,7 \pm 2,1$ года). Концентрацию малонового диальдегида (МДА) и SH-групп определяли спектрофотометрическими методами [1].

Липидный спектр крови определяли на биохимическом анализаторе FR-901 «Lab system» с использованием стандартных реактивов «Biosom». Оценку способности к самообслуживанию проводили по шкале, разработанной сотрудниками Санкт-Петербургского городского гериатрического медико-социального центра [10]. Психологическое тестирование проводили с использованием краткой шкалы оценки когнитивного дефицита (MMSE), которая позволяет тестировать внимание, краткосрочную и отсроченную слухоречевую память, счет, письмо, праксис и зрительно-пространственную ориентацию [20].

В работе использованы эналаприл 5–20 мг/сут, атенолол 25–50 мг/сут, нифедипин (адалат СЛ) 20 мг/сут, симвастатин (симвастол, вазилип) 10 мг/сут, гипотиазид 12,5–50 мг/сут и адель-

фан 1–2 таблетки в сутки в виде монотерапии или разных комбинаций. Выбор дозы препаратов осуществляли методом титрования под тщательным контролем клинического состояния пациента (использовали шкалу оценки клинического состояния (ШОКС) по В.Ю. Марееву и тест шестиминутной ходьбы — ТШХ) с учетом величины АД, частоты сердечных сокращений (ЧСС) и суточного диуреза. Альфа-токоферола ацетат (витамин А) пациенты получали в суточной дозе 0,1 г; ретинола пальмитат (витамин Е) — 100 000 МЕ в составе витаминного комплекса «АЕвит». Курс лечения витаминами составил 60 дней.

Статистическая обработка результатов включала определение средней величины, стандартного отклонения, стандартной ошибки средней. Для оценки достоверности различий двух совокупностей применяли *t*-критерий Стьюдента: разность считалась достоверной при $t \geq 2$ ($p < 0,05$). Математическая обработка данных выполнена с использованием программы «Statgraphics plus for Windows», версия 7.0.

Результаты и обсуждение

Оксидативный гомеостаз у лиц пожилого возраста контрольной группы характеризуется большей выраженностью прооксидантных процессов и ослаблением антиоксидантной защиты, по сравнению с лицами моложе 60 лет. Согласно полученным данным, в пожилом возрасте имеется тенденция к увеличению концентрации МДА с $32,1 \pm 1,2$ мкмоль/л в среднем возрасте до $41,1 \pm 1,0$ мкмоль/л в пожилом возрасте ($p < 0,05$). В контрольной группе также отмечена тенденция к снижению содержания маркера антиоксидантной защиты SH-групп с $317,5 \pm 10,5$ мкмоль/л в среднем возрасте до $291,4 \pm 7,3$ мкмоль/л в пожилом возрасте ($p < 0,05$). Соответственно, снижается суммарный коэффициент SH/МДА с $9,89 \pm 0,2$ у здоровых лиц среднего возраста до $7,09 \pm 0,4$ у здоровых пожилых ($p < 0,05$). Таким образом, пожилой возраст даже без какой-либо хронической патологии является периодом усиления про- и ослабления антиоксидантных систем.

Внутри контрольной группы факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний достоверно усиливают окислительный стресс у лиц пожилого возраста, приводя к еще большему снижению показателя SH/МДА (табл. 1).

Степень выраженности оксидативного стресса у больных АГ взаимосвязана с характером гемо-

Зависимость показателей антиоксидантной защиты от факторов риска сердечно-сосудистой патологии в контрольной группе, n=164

Показатель	Возрастная подгруппа контрольной группы	МДА, мкмоль/л	SH-группы, мкмоль/л	Соотношение SH/МДА
Курение	Подгруппа В; n=111	51,3±1,1	184,1±7,3	3,58±0,1*
Гиподинамия		45,1±1,2	255,2±5,4	5,65±0,3*
Стресс		43,1±0,7	259,4±8,2	6,01±0,2*
Гиперхолестеринемия		51,5±1,1	201,3±8,9	3,93±0,1*
Отсутствие факторов риска	Подгруппа А; n=53	41,5±1,2	292,5±7,1	7,04±0,2

* $p < 0,05$ по сравнению с подгруппой А

динамических изменений при этом заболевании. Выявлено, что у пациентов среднего возраста контрольной группы содержание МДА ниже, чем у пациентов пожилого возраста: $34,5 \pm 1,2$ и $43,4 \pm 1,5$ мкмоль/л, соответственно ($p < 0,05$). Для пациентов среднего возраста характерна более высокая, чем для пожилых, концентрация SH-групп: $319,8 \pm 9,3$ и $291,5 \pm 7,4$ мкмоль/л, соответственно ($p < 0,05$). Соотношение SH/МДА также свидетельствует об увеличении прооксидантных влияний у пожилых пациентов с АГ по сравнению с лицами среднего возраста: $6,7 \pm 0,2$ и $9,26 \pm 0,1$, соответственно ($p < 0,05$).

В табл. 2 представлены результаты исследования зависимости некоторых показателей липидного обмена и состояния оксидативного гомеостаза от степени выраженности АГ у лиц пожилого возраста.

Показано, что у лиц с АГ III стадии выявлено достоверное нарушение оксидантного гомеостаза, обусловленное повышением МДА и снижением SH-групп. Вместе с тем, не было обнаружено статистически достоверных изменений в липидном спектре крови исследуемых пациентов. В табл. 3

представлены данные о влиянии эналаприла на показатели оксидативного гомеостаза, которые свидетельствуют о том, что при терапии эналаприлом уровень МДА снижается. Одновременно происходит повышение содержания SH-групп, характеризующих антиоксидительный потенциал и рост коэффициента SH/МДА. Дальнейшие исследования показали, что наибольшим положительным влиянием на показатели оксидативного гомеостаза и липидного обмена обладает симвастатин (табл. 4). В отличие от эналаприла, применение симвастатина приводит к некоторому улучшению липидного статуса, о чем можно судить на основании повышения при его использовании уровня содержания ЛПВП и снижения ЛПНП и холестерина в группах больных II–III стадий. Таким образом, эналаприл и, особенно, симвастатин обладают положительным влиянием на показатели оксидативного стресса у пожилых больных АГ. Наряду с этим, нами не было получено достоверных данных о влиянии гипотиозида и адельфана на оксидативный гомеостаз.

Дальнейшие исследования показали, что терапия, содержащая комплексы с витаминами А и Е,

Зависимость липидного обмена и оксидативного гомеостаза от стадии АГ у лиц пожилого возраста

Показатель	Артериальная гипертензия, стадия		
	I	II	III
МДА, мкмоль/л	43,5±1,2	43,4±1,3	52,6±0,3 *
SH-группы, мкмоль/л	320,4±11,2	321,2±10,8	323,2±10,3
Соотношение SH/МДА	7,38±0,2	7,42±0,1	6,25±0,3 *
Холестерин	6,3±0,7	6,2±0,8	6,1±0,8
ЛПВП	1,2±0,2	1,3±0,2	1,2±0,3
Триглицериды	1,7±0,5	1,6±0,4	1,7±0,5
ЛПНП	4,6±0,4	4,5±0,5	4,6±0,6

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями пациентов с АГ I и II стадий

Таблица 3

Влияние эналаприла на некоторые показатели липидного обмена и состояние оксидативного гомеостаза у больных АГ I, II и III стадий, n=81

Показатель	До лечения	Через 1 мес лечения	Через 6 мес лечения
МДА, мкмоль/л	44,6±0,9	39,3±1,4*	37,2±0,3*
SH-группы, мкмоль/л	319,8±13,5	331,2±10,8*	344,2±10,5*
Соотношение SH/МДА	7,52±0,2	8,42±0,1*	9,25±0,3*
Холестерин	6,4±0,6	6,2±0,8	6,0±0,7
ЛПВП	1,1±0,3	1,3±0,2	1,4±0,2
Триглицериды	1,5±0,6	1,6±0,4	1,4±0,3
ЛПНП	4,7±0,5	4,5±0,5	4,3±0,4

* $p < 0,05$ по сравнению с группой больных до лечения

Таблица 4

Влияние симвастатина на некоторые показатели липидного обмена и состояние оксидативного гомеостаза у больных АГ I, II и III стадий, n=79

Показатель	До лечения	Через 1 мес лечения	Через 6 мес лечения
МДА, мкмоль/л	43,2±1,3	40,1±0,5*	36,3±1,1*
SH-группы, мкмоль/л	320,5±10,1	326,1±9,3	338,2±9,1*
Соотношение SH/МДА	7,41±0,1	8,13±0,2*	9,34±0,1*
Холестерин	6,2±0,3	5,9±0,1	5,5±0,1
ЛПВП	1,2±0,1	1,4±0,09	1,7±0,08
Триглицериды	1,7±0,4	1,5±0,1	1,3±0,1
ЛПНП	4,5±0,2	4,1±0,1	3,8±0,2

* $p < 0,05$ по сравнению с группой больных до лечения

повышает антиоксидантный потенциал организма без влияния на прооксидантные процессы и показатели липидного обмена (табл. 5).

Согласно полученным нами данным, у всех пациентов с АГ I–III стадий в процессе лечения гипотензивными препаратами АД снизилось и приблизилось к целевым значениям, а у больных АГ с сопутствующим сахарным диабетом была достигнута нормогликемия.

Как видно из данных, представленных в табл. 6, была выявлена положительная динамика клинических симптомов, снижение когнитивного дефицита и повышение способности к самообслуживанию у больных АГ I–III стадий, получавших комбинированную гипотензивную терапию. Проведенные исследования показали, что применение комбинированной антигипертензивной и гипохолестеринемической терапии в комплексе с витаминами А и Е приводит к уменьшению клинических симпто-

Таблица 5

Влияние «АЕвита» на показатели оксидативного гомеостаза и липидного обмена

Показатель	До лечения	Через 1 мес лечения	Через 6 мес лечения
МДА, мкмоль/л	42,9±1,2	42,8±1,1	42,5±1,3
SH-группы, мкмоль/л	321,9±9,3	328,1±8,7	349,2±5,1*
Соотношение SH/МДА	7,5±0,1	7,7±0,1	8,2±0,1*
Холестерин	5,9±0,2	5,8±0,3	5,9±0,3
ЛПВП	1,1±0,2	1,2±0,1	1,1±0,2
Триглицериды	1,8±0,4	1,8±0,3	1,7±0,4
ЛПНП	4,4±0,3	4,5±0,2	4,6±0,3

* $p < 0,05$ по сравнению с группой больных до лечения

Таблица 6

Некоторые показатели у больных АГ I, II и III стадий пожилого возраста, n=69

Симптом	До лечения	После лечения
Головная боль, %	45,0	33,4*
Головокружение, %	27,9	16,5*
Шум в голове, %	22,4	17,8
Расстройство сна, %	25,7	10,5*
Одышка при физической нагрузке, %	29,2	16,6*
Сердцебиение, %	21,5	14,5*
Общая слабость, %	29,8	20,7
MMSE, баллы	27,7±3,1	29,3±2,8
Снижение способности к самообслуживанию, %	15,0	10,5*
ШОКС	4,3	2,3*
ТШХ	375±8,1	448±9,2*

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями до лечения

мов ХСН и ХИМ и сопровождается повышением способности к самостоятельному передвижению и самообслуживанию.

Выводы

У лиц пожилого возраста АГ усиливает выраженность окислительного стресса из-за повышения интенсивности ПОЛ, также способствует свободнорадикальному окислению и ослаблению антиоксидантной защиты. Высокие цифры АД и создают неблагоприятный оксидантный профиль.

Для пожилых больных АГ с признаками оксидативного стресса показано применение ингибиторов АПФ, β -блокаторов и антагонистов кальция, так как они достоверно снижают систолическое и диастолическое АД и степень выраженности окислительного стресса.

Включение в схемы антигипертензивной терапии средств, обладающих антиоксидантными свойствами, способствует снижению интенсивности свободнорадикального окисления липопротеидов и повышает активность антиоксидантной системы.

Оптимальные схемы терапии АГ должны включать как β -блокаторы, ингибиторы АПФ, антагонисты кальция, так и статины при сопутствующих нарушениях липидного обмена. В качестве вспомогательных средств терапии желательнее использовать препараты витаминов А и Е, так как они способствуют повышению антиоксидантного потенциала организма.

Литература

1. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб., 2000.
2. Беленков Ю. Н., Чазова Е. И. Первое российское национальное многоцентровое исследование — РОСА (Российское исследование оптимального снижения артериального давления) // Артериальная гипертензия. 2003. Т. 9. № 5. С. 151–154.
3. Гольдблат Ю. В. Медико-социальная реабилитация в неврологии. СПб.: Политехника, 2006.
4. Дедов И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет: Руководство для врачей. М.: Универсум пабблишинг, 2003.
5. Кобалава Ж. Д., Котовская Ю. В. Артериальная гипертензия: новое в диагностике и лечении. М.: Оптима, 2006.
6. Кобалава Ж. Д., Котовская Ю. В., Склизкова Л. А., Моисеев В. С. Лечение и обследование пожилых больных с артериальной гипертензией: представление врачей и реальная практика (по данным Российской научно-практической программы АРГУС) // Артериальная гипертензия. 2002. Т. 8. № 5. С. 165–168.
7. Конради А. О. Антигипертензивная терапия в профилактике когнитивных расстройств // Артериальная гипертензия. 2005. Т. 11. № 3. С. 160–163.
8. Лазебник Л. Б., Комиссаренко И. А., Милюкова О. М. Артериальная гипертензия у пожилых. М.: Изд-во МАИ, 2003.
9. Медведев Н. В., Горшунова Н. К., Украинцева Д. Н. Оценка показателей перекисного окисления липидов и нарушений липидного обмена у пациентов старшего возраста, страдающих артериальной гипертензией // Клинический геронтолог. Т. 14. № 9. 2008. С. 7–8.
10. Методические рекомендации по организации деятельности государственных учреждений гериатрической службы / Под ред. В. Н. Филатова. СПб., 2007.
11. Оракова Ф. Х., Кодзоев З. М., Дидигова Р. Т. и др. Особенности течения артериальной гипертензии у лиц старших возрастных групп // Клинический геронтолог. 2008. Т. 14. № 9. С. 10.
12. Рунов А. Г., Жулина Н. И., Артемин В. А. и др. Особенности старения больных артериальной гипертензией пожилого и старческого возраста // Клинический геронтолог. Т. 14. № 9. 2008. С. 14.
13. Скворцова В. И., Евзельман М. А. Ишемический инсульт. Орел, 2006.
14. Чазова Е. И. Бета-блокаторы и сахарный диабет типа 2 // Артериальная гипертензия. 2002. Т. 8. № 5. С. 160–164.
15. Шевченко О. П., Праскурничий Е. А. Артериальная гипертензия. М.: Реафарм, 2006.
16. Alderman M. H., Cohen H., Roquea A. et al. Effect of long-acting and short acting calcium antagonists on cardiovascular outcomes in hypertensive patients // Lancet. 1997. Vol. 349. P. 594–598.
17. Baynes J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes // Diabetes. 1991. Vol. 40. P. 405–412.
18. Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type II diabetes: UKPDS 39 / UK Prospective Diabetes Study Group // BMJ. 1998. Vol. 317. P. 717–720.
19. Estacio R. O., Schier R. W. Antihypertensive therapy in type 2 diabetes: implications of the Appropriate Blood Pressure Control in Diabetes (ABCD) trial // Amer. J. Cardiol. 1998. Vol. 82. P. 9R–14R.
20. Folstein M. F., Folstein S. E., McHugh P. R. Mini-Mental State: a practical method for grading the cognitive state of patient for the clinician // J. Psychiatr. Res. 1975. Nov. Vol. 12. № 3. P. 189–198.

21. *Nojiri H., Shimizu T., Funakoshi M. et al.* Oxidative stress causes heart failure with impaired mitochondrial respiration // *J. Biol. Chem.* 2006. № 3. P. 789–801.

22. *Sayar N., Terzi S., Yilmaz H. Y. et al.* Exercise-induced increase in lipid peroxidation in patients with chronic heart fail-

ure: relation to exercise intolerance // *Cardiology.* 2007. Vol. 108. № 4. P. 307–313.

23. *Tingberg E., Ohlin A. K., Gottsäter A. et al.* Lipid peroxidation is not increased in heart failure patients on modern pharmacological therapy // *Int. J. Cardiol.* 2006. Vol. 112. № 3. P. 275–281.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 316–321

T. V. Kharitonova¹, L. S. Kozina², A. G. Zakharchuk¹

SOME INDICES OF LIPIDS METABOLISM AND OXIDANT PROFILE IN GERIATRIC PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

¹ City Geriatric Centre, 148 nab. Fontanki, St. Petersburg 190103; e-mail: geriatric@mail.ru; ² St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, NWB of RAMS, 3 pr. Dynamo, St. Petersburg 197110

Arterial hypertension contributes essentially into development of chronic heart failure and chronic ischemia of the brain, which results in social dependence of geriatric patients. One of the important factors in the development of arterial hypertension is the state of lipids peroxidation. Misbalance among the products of lipids peroxidation and components of antioxidation defense system revealed in cardiovascular diseases (mainly in arterial hypertension and heart failure) promotes progress of these diseases and premature aging of an organism. The therapy aimed at normalization of the oxidative profile of the patients with arterial hypertension should include prolonged β -blockers, ACE inhibitors, calcium antagonists, statines and polyvitamin complexes with vitamins A and E.

Key words: *arterial hypertension, chronic heart failure, lipids peroxidation, geriatrics*

В. И. Помазкин

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА НА КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С КИШЕЧНЫМИ СТОМАМИ

Свердловская областная клиническая больница № 1, 620102 Екатеринбург, ул. Волгоградская, 185; e-mail: yunker@yandex.ru

В работе приведены данные исследования качества жизни 63 пациентов с временными кишечными стомами. Основную группу составили 35 больных старше 60 лет, контрольную — 38 пациентов младше 60 лет. Исследования проводили с помощью шкалы MOS-SF-36 в сроки через 3 и 6 мес после стомирующей операции. Через 3 мес после формирования стомы показатели, оценивающие физическое благополучие, были выше в контрольной группе; показатели, оценивающие психическое благополучие, были сравнимы. Через 6 мес у пациентов старше 60 лет отмечалась положительная динамика показателей физического здоровья, но меньшая, чем в контрольной группе. Показатели психического здоровья у пожилых больных в этот срок значительно не менялись, в отличие от показателей более молодых пациентов, у которых отмечали достоверное улучшение. Сделан вывод, что возраст является независимым фактором, влияющим на качество жизни стомированных пациентов, при этом качество жизни страдало в большей степени у более пожилых больных.

Ключевые слова: кишечная стома, качество жизни, реабилитация

Формирование постоянной или временной кишечной стомы часто необходимо при хирургических вмешательствах на толстой и прямой кишке. Это происходит в тех случаях, когда по тем или иным причинам восстановление целостности кишечного тракта невозможно. В условиях роста осложненной патологии толстой кишки, как при опухолевых

так и неопухолевых заболеваниях, количество пациентов с коло- и илеостомами неуклонно увеличивается. В связи с развитием реабилитационных программ для стомированных больных, интерес к теме влияния кишечной стомы на разные сферы их жизни увеличился. Во многих исследованиях доказано, в целом, негативное воздействие стомы на качество жизни, независимое от показаний к ее формированию [3, 6, 7].

Исследование того, какие именно группы пациентов более подвержены такому отрицательному воздействию, является актуальным для возможности более активной их поддержки и коррекции в процессе реабилитации. Целью нашей работы являлась оценка влияния возраста на качество жизни стомированных больных, а также динамика изменений параметров качества жизни с течением времени в зависимости от возраста.

Материалы и методы

В работу включены результаты исследования качества жизни 63 пациентов с временными коло- и илеостомами, находившихся на лечении в отделении колопроктологии СОКБ № 1 Екатеринбурга

Таблица 1

Характеристика пациентов

Показатель	Основная группа, n=35	Контрольная группа, n=38
Средний возраст, лет	65,3 (60–74)	48,3 (34–59)
Мужчины/женщины, %	40/60	47,4/52,6
Основное заболевание, приведшее к формированию стомы		
рак толстой кишки	29 (82,9 %)	31 (81,5 %)
дивертикулярная болезнь	5 (14,3 %)	5 (13,2 %)
воспалительные заболевания толстой кишки	1 (2,8 %)	2 (5,3 %)
Характеристика колостомы		
одностольные	28 (80 %)	29 (76,3 %)
двустольные	7 (20 %)	9 (23,7 %)
Среднее количество сопутствующих заболеваний на одного пациента	3,1	1,3

в период с 2007 по 2008 г. Всем пациентам ранее были выполнены экстренные оперативные вмешательства по поводу осложнений заболеваний толстой кишки. В основную группу вошли 35 больных 60 лет и старше (от 60 до 74 лет): мужчин — 14, женщин — 21; средний возраст пациентов — 65,3 года (табл. 1). В контрольную группу включены 38 пациентов от 34 до 59 лет: мужчин — 18, женщин — 20; средний возраст пациентов — 48,3 года.

Соотношения видов стом и заболеваний, приведших к их формированию, существенно не различались в группах больных. Среднее число сопутствующих заболеваний на одного пациента составило 3,1 в основной группе и 1,3 — в контрольной. Вся сопутствующая патология была в стадии компенсации без значительного ухудшения в процессе наблюдения. Всем больным, включенным в исследование, была произведена, в конечном итоге, восстановительная операция с ликвидацией стомы.

Исследование качества жизни производили с помощью шкалы MOS-SF-36, которая предназначена для измерения общего состояния здоровья, а именно — тех его составляющих, которые не являются специфичными для возрастных групп, определенных заболеваний или программ лечения [5]. В опросник этой шкалы включено 36 пунктов, которые сгруппированы в восемь разделов: «физическое функционирование», «ролевое функционирование», «телесная боль», «общее здоровье», «жизнеспособность», «социальное функционирование», «эмоциональное функционирование» и «психическое здоровье». Показатели каждого раздела после обработки полученных данных пред-

ставлены в баллах и варьируют от 0 до 100, при этом более высокая оценка указывает на более высокий уровень качества жизни. Все разделы этой шкалы в целом характеризуют психическое и физическое благополучие.

Исследование производили через 3 и 6 мес после первичного вмешательства, закончившегося формированием стомы. В связи с тем, что пациентов ранее оперировали в разных лечебных учреждениях и направляли к нам для восстановительного оперативного лечения, предоперационный уровень качества жизни определялся ретроспективно. Для определения значимости различий средних значений показателей в основной и контрольной группах использовали критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты оценки качества жизни через 3 и 6 мес после формирования стомы представлены в табл. 2.

Через 3 мес после операции в обеих группах пациентов наблюдали существенное снижение показателей во всех сферах жизни. Однако в группе пациентов старше 60 лет отмечены достоверно более низкие показатели, по сравнению с контрольной группой, в разделах «физическое функционирование» (40,2 и 51,2 балла), «ролевое функционирование» (36,7 и 50,5 балла), «телесная боль» (42,2 и 55,3 балла) и «общее здоровье» (39,2 и 48,7 балла, соответственно), $p < 0,05$. В то же время показатели разделов «жизнеспособность», «социальное функционирование», «эмоциональное функционирование» и «психическое здоровье» в эти сроки после операции были сопоставимыми.

Таблица 2

Показатели качества жизни больных с кишечными стомами по шкале MOS-SF-36

Раздел MOS-SF-36	3 мес после операции		6 мес после операции	
	основная группа	контрольная группа	основная группа	контрольная группа
Физическое функционирование	40,2	51,2*	49,3	60,4**
Ролевое функционирование	36,7	50,5*	52,1	59,1**
Телесная боль	42,2	55,3*	49,4	78,5**
Общее здоровье	39,2	48,7*	45,1	58,4**
Жизнеспособность	42,2	46,6	44,3	58,2**
Социальное функционирование	38,2	41,3	40,2	57,3**
Эмоциональное функционирование	40,1	45,6	44,2	64,8**
Психическое здоровье	41,2	48,5*	52,1	65,3**

* $p < 0,05$ при сравнении групп через 3 мес после операции

** $p < 0,05$ при сравнении групп через 6 мес после операции

Через 6 мес после операции наблюдали улучшение качества жизни пациентов в обеих группах. Так, в основной группе показатели раздела «физическое функционирование» увеличились с 40,2 до 49,3 балла, раздела «ролевое функционирование» — с 36,7 до 52,1 балла, разделов «телесная боль» и «общее здоровье» — с 42,2 до 49,4 и с 39,2 до 45,1 балла, соответственно. В то же время в разделах, отражающих психическое благополучие, отмечен достоверный рост только показателя «психическое здоровье» (с 41,2 до 52,1 балла), в остальных же разделах значимой динамики не отмечали.

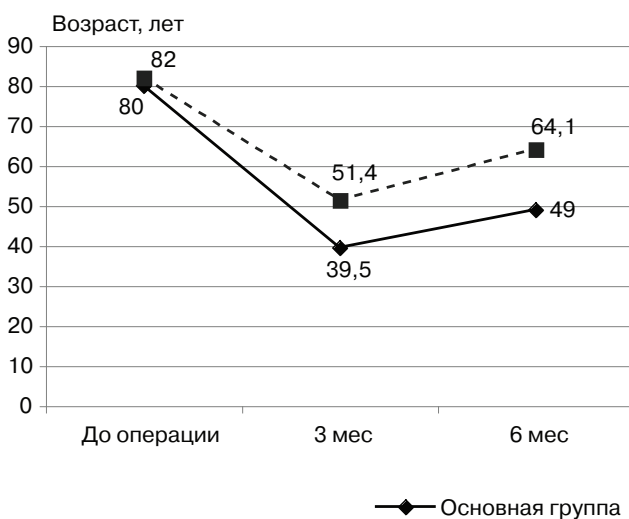
В контрольной группе в этот срок после формирования стомы достоверное увеличение показателей наблюдали во всех разделах шкалы SF-36, хотя ни в одном из них также не был достигнут дооперационный уровень, причем прирост показателей был значимо большим, чем в основной группе. Особенно это наглядно в разделах «телесная боль», показатель которого увеличился с 55,3 до 78,5 балла, «общее здоровье» (с 48,7 до 58,4 балла), «жизнеспособность» (с 46,6 до 58,2 балла), «социальное функционирование» (с 41,3 до 57,3 балла) и «эмоциональное функционирование» (с 45,6 до 64,8 балла), $p < 0,05$.

В целом, динамика объединенных данных физического и психического благополучия пациентов с кишечными стомами в зависимости от возраста показана на *рисунке*. Физическое благополучие было достоверно выше в контрольной группе как через 3 мес после формирования стомы, так и через 6 мес, по сравнению с основной группой.

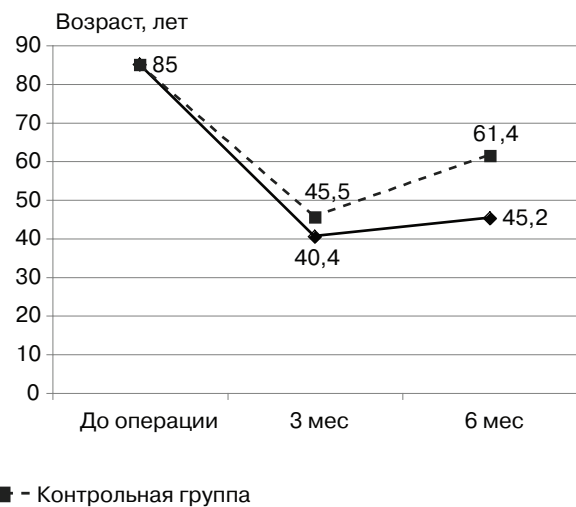
Психическое благополучие было сравнимо в группах через 3 мес после операции, но достоверно имело более положительную динамику в контрольной группе.

Качество жизни представляет собой сложное, многомерное понятие, под которым подразумевают интегральную характеристику физического, психического, эмоционального и социального функционирования человека, основанную на его субъективном восприятии [1]. Существует глубокая взаимосвязь этих областей деятельности, так что у пациентов, перенесших оперативное лечение с формированием кишечной стомы, происходит изменение всех сфер жизни, затрагивающее и физическое, и психологическое состояние [3, 7].

Проведенные ранее исследования показали серьезные изменения образа жизни больных с кишечными стомами, особенно касающиеся психоэмоциональной сферы. Так, в некоторых работах было продемонстрировано, что большинство из них испытывают ощущение одиночества и низкую самооценку с утратой чувства собственного достоинства, что приводит к развитию депрессии и даже суицидальных мыслей [4, 8]. К. Nugent и соавт. показали, что не менее 80 % пациентов тяжело переживали необходимость адаптации к жизни со стомой, более чем 40 % испытывали серьезное ухудшение в сексуальной сфере. При этом достаточно распространенным мнением является, что наиболее остро стома влияет на образ жизни лиц молодого трудоспособного возраста из-за их большей социальной активности [6].



а



б

Влияние возраста на физическое (а) и психическое (б) благополучие пациентов с кишечными стомами

В отличие от этого, наше исследование показало, что большее снижение качества жизни испытывают пациенты старше 60 лет, причем по значимости ухудшение физического благополучия не уступает ухудшению в психологической сфере. Вероятно, это может быть связано с большими трудностями ухода за стомой в более пожилом возрасте, меньшими адаптивными возможностями при резком изменении стереотипа привычного образа жизни. Это подтверждается тем, что с течением времени у более молодых пациентов наблюдалась лучшая положительная динамика показателей качества жизни. Мы не можем связать этот факт с большим числом сопутствующих заболеваний у пациентов пожилого возраста, как это объяснено в работе S. Jain и соавт. [2]. В наше исследование не были включены больные с сопутствующей патологией в стадии декомпенсации и не было значительного ухудшения течения сопутствующих заболеваний в период после формирования стомы.

Показания к восстановительным операциям у лиц пожилого возраста с временными кишечными стомами иногда рассматриваются все еще достаточно сдержанно. Наше исследование показывает необходимость расширения показаний к реабилитационным программам у этой группы пациентов, включая и восстановительное оперативное лечение.

Учитывая определенные недостатки использования общего опросника MOS-SF-36, для выявления более конкретизированного влияния стомы на жизненные проблемы в разных возрастных группах больных с кишечными стомами мы планируем продолжить наши исследования с разработкой и ис-

пользованием более специфических инструментов для оценки качества жизни пациентов со стомой.

Выводы

Возраст является достоверным независимым фактором, воздействующим на качество жизни пациентов со стомой.

Качество жизни больных со стомой старше 60 лет страдает в большей степени, в сравнении с более молодыми людьми, как в сфере физического, так и психического благополучия.

Литература

1. Новик А. А., Ионова Т. И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине / Под ред. акад. РАМН Ю. Л. Шевченко. М.: ЗАО «ОЛМА Медиа групп», 2007.
2. Jain S. et al. Comorbidities play a larger role in predicting health-related quality of life compared to having an ostomy // Amer. J. Surg. 2007. Vol. 194. P. 774–779.
3. Karadag A. et al. Impact of stomatherapy on quality of life in patients with permanent colostomies or ileostomies // Int. J. Colorectal. Dis. 2003. Vol. 18. P. 234–238.
4. MacDonald L., Anderson H. Stigma in patients with rectal cancer: a community study // J. Epidemiol. Community Hlth. 1984. Vol. 38. P. 284–290.
5. McHorney C. A., Ware J. E., Raczeck A. E. The MOS-36-item Short-Form Health Survey (SF-36). Psychometric and clinical tests of validity in measuring physical and mental health constructs // Med. Care. 1993. Vol. 31. P. 247–263.
6. Nugent K. et al. Quality of life in stoma patients // Dis. Colon Rectum. 1999. Vol. 42. P. 1569–1574.
7. Silva M., Ratnayake G., Deen K. Quality of life of stoma patients: temporary ileostomy versus colostomy // Wld. J. surg. 2003. Vol. 27. P. 421–424.
8. Williams N. S., Johnston D. The quality of life after rectal excision for low rectal cancer // Brit. J. Surg. 1983. Vol. 70. P. 460–462.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 322–325

V. I. Pomazkin

INFLUENCE OF AGE ON QUALITY OF LIFE OF PATIENTS WITH INTESTINAL STOMA

Sverdlovsk regional hospital № 1, Public Health Ministry of Sverdlovsk Region, 185 Volgogradskaja ul., Ekaterinburg 620102, Russia; e-mail: yunker@yandex.ru

The work presents the research data on quality of life of 63 patients with temporary intestinal stoma. The basic group was made of 35 patients aged 60+ years, 38 patients younger than 60 years were included in the control group. Researches were carried out by means of a scale of an estimation of quality of life MOS-SF-36 in 3 and 6 months after the colostomy. In 3 months after colostomy, the indicators estimating physical well-being were above in the control group, the indicators estimating mental well-being were comparable. In 6 months the positive dynamics of indicators of physical health was marked in the group of 60+ patients but it was less than in the control group. Indicators of mental health in elderly patients did not vary considerably in this period, unlike the indicators of younger patients where authentic improvement was marked. The conclusion is drawn that age is the independent factor influencing quality of life of stomas patients, thus quality of life suffered more in older patients.

Key words: *intestinal stoma, quality of life, rehabilitation*

Р. В. Лютов

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ РАКОМ ЖЕЛУДКА И ЕГО РЕЦИДИВЫ У ЛИЦ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН; 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3;
e-mail: galina@gerontology.ru

Своевременная диагностика и лечение рака желудка и его рецидива у больных разных возрастных групп — одна из сложных проблем гериатрии, абдоминальной хирургии, онкологии. На основании анализа 600 историй болезни пациентов разного возраста были изучены особенности клинического течения рака желудка и его рецидива; выявлена зависимость развития рака желудка от возраста и сроки возможного развития рецидива, а также продолжительность предоперационной подготовки и эффективность лечения в зависимости от возраста больного. Результаты исследования показали, что наиболее высоким риском заболевания раком желудка и его рецидивом обладают лица пожилого и старческого возраста, у которых отмечается также максимальное количество осложнений течения рака желудка. До 70% случаев заболевания раком желудка диагностируется в генерализованной стадии процесса, при этом 52% больных, особенно пожилого и старческого возраста, поступают в стационар по неотложным показаниям, что подтверждает необходимость совершенствования методов ранней диагностики заболевания.

Ключевые слова: рак желудка, рецидив рака желудка, пожилой возраст

Злокачественные образования занимают ведущее место в клинической медицине. В последние два десятилетия темп прироста заболеваемости злокачественными опухолями превышает годовой темп прироста мирового населения. По данным Международного агентства по изучению рака, ежегодно в мире раком разной локализации заболевает более 10 млн человек, а умирает до 6,5 млн человек, в том числе ежегодно около 1 млн человек заболевает раком желудка, из них около 700 тыс. умирает [1]. Рак желудка поражает население разных стран мира с неодинаковой частотой. Высока заболеваемость раком желудка в таких странах, как Япония, Норвегия, Германия, Австрия. В Российской Федерации заболеваемость раком желудка в течение ряда последних десятилетий стойко занимает второе место среди злокачественных опухолей всех локализаций. Злокачественные опухоли желудка поражают население всех возрастных групп, включая новорожденных, однако частота развития этой патологии зависит от возраста.

Основу работы составило изучение историй болезни и собственных наблюдений 600 больных, находившихся на обследовании и лечении по поводу рака желудка и его рецидива в отделениях абдоминальной и неотложной хирургии, гастроэнтерологии Главного военного клинического госпиталя им. акад. Н. Н. Бурденко Министерства обороны РФ; 442-го Окружного военного клинического госпиталя им. З. П. Соловьева ЛенВО МО РФ; Городской больницы № 26 Санкт-Петербурга — базы кафедры торакальной хирургии Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования.

Мужчин поступило 513 (85,5%), женщин — 87 (14,5%). Возраст больных варьировал от 17 до 92 лет и в среднем составил $62,1 \pm 1$ год у мужчин и $64,2 \pm 1$ год у женщин. Максимальный возраст мужчин составил 92 года, минимальный — 17 лет, у женщин, соответственно, — 91 и 47 лет. Всех больных разделили на 5 возрастных групп согласно классификации ВОЗ: молодой возраст — 17–35 лет, средний возраст — 36–59, пожилой — 60–74, старческий — 75–89 лет и долгожители — 90 лет и старше. Соответственно, в эти группы вошли 22 (3,8%), 137 (22,8%), 331 (55,2%), 107 (17,7%) и 3 (0,5%) больных. Полученные результаты подтвердили тот факт, что раком желудка и его рецидивом чаще заболевают люди среднего и пожилого возраста. Стадию заболевания определяли по системе TNM «Классификация злокачественных опухолей» (6-е изд., 2003 г.), принятой Международным противораковым союзом. На основании результатов клинического обследования, интраоперационной диагностики, гистологического изучения операционного материала и данных патологоанатомического исследования умерших, I стадию рака желудка и его рецидива диагностировали у 98 (16,3%) больных, II — у 82 (13,7%), III — у 135 (22,5%), IV — у 285 (47,5%). Таким образом, больные в генерализованной ста-

Частота развития рецидива рака желудка и время его возникновения в зависимости от возраста больных

Возраст, лет	Время возникновения рецидива, мес										Количество	
	2	3	4	5	12	24	36	48	60	>60	абс. число	%
17–35	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
36–59	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	2
60–74	4	1	4	1	25	22	16	3	1	9	86	86
75–89	–	–	–	–	–	–	–	–	3	8	11	11
90 и старше	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1	1
Всего	6	1	4	1	25	22	16	3	4	18	100	100

дии злокачественного процесса составили 70%. Далее в нашем исследовании мы разделили больных раком желудка и больных с его рецидивом. Чаще, чем во всех остальных группах, рак желудка почти во всех стадиях процесса был диагностирован у больных пожилого возраста: I стадия — у 43 (8,6%); II — у 29 (5,8%); III — у 47 (9,4%) и IV — у 126 (25,2%) больных. Второе место по заболеваемости раком желудка занимают больные среднего возраста. Самую малочисленную группу заболевших раком желудка составляют больные молодого возраста.

Особо следует заметить, что у больных пожилого и старческого возраста опухолевое поражение

редко было изолированным, а превалировала сочетанная патология, то есть когда в патологический процесс вовлекались другие органы брюшной полости. До 52% больных поступили в стационар по неотложным показаниям; 45,2% из них имели генерализованную стадию заболевания, что подтверждает позднюю диагностику заболевания [4, 5]. Наиболее часто течение генерализованной стадии процесса осложнялось острой кишечной непроходимостью (17,2% больных), кровотечением из опухоли (16,2%), асцит-перитонитом (12%), острым панкреатитом (у 11,6%).

Учитывая, что самую многочисленную группу с генерализованной стадией процесса составили

Таблица 2

Частота сопутствующей патологии у больных раком желудка в зависимости от возраста, n=500

Заболевание	Возраст, лет										Количество	
	17–35		36–59		60–74		75–89		90 и старше		абс. число	%
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%		
Ишемическая болезнь сердца	–	–	27	20,0	106	43,3	56	58,3	2	100	191	38,2
Гипертоническая болезнь	–	–	29	21,5	112	45,7	62	64,6	2	100	205	41,0
Заболевания ЦНС	–	–	4	3,0	16	6,5	14	14,6	2	100	36	7,2
Заболевания органов дыхания	–	–	8	5,9	32	13,1	18	18,8	2	100	60	12,0
Язвенная болезнь	3	13,6	29	21,5	78	31,8	22	22,9	–	–	132	26,4
Хронический атрофический колит	–	–	27	20,0	76	31,0	24	25,0	2	100	129	25,8
Заболевания печени и желчного пузыря	–	–	14	10,4	51	20,8	24	25,0	2	100	91	18,2
Заболевания органов внутренней секреции	–	–	26	19,3	65	26,5	8	8,3	–	–	99	19,8
Заболевания органов мочевыделительной системы	–	–	6	4,4	26	10,6	9	9,4	2	100	43	8,6
Системные заболевания	–	–	2	1,5	7	2,9	1	1,0	–	–	10	2,0
Сопутствующие онкозаболевания	–	–	4	3,0	8	3,3	3	3,1	–	–	15	3,0
Прочие заболевания	6	27,3	28	20,7	64	26,1	9	9,4	2	100	109	21,8
Всего больных раком желудка	22		135		245		96		2		500	

Сопутствующая патология у больных раком желудка, явившаяся абсолютным противопоказанием к хирургическому лечению, n=500

Патология	60–74 года		75–89 лет		90 лет и старше		Количество	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Острое нарушение мозгового кровообращения	2	0,4	2	0,4	1	0,2	5	1,0
Острый инфаркт миокарда	3	0,6	4	0,8	1	0,2	8	1,6
Всего	5	1,0	6	1,2	2	0,4	13	2,6

больные пожилого возраста, то и течение заболевания у этой возрастной категории больных было наиболее осложненным, что согласуется с литературными данными [2, 3].

Другую группу составили больные, у которых после проведенного обследования выявили рецидив рака желудка (100 человек), то есть 16,6 % от общего числа лечившихся больных за весь период наблюдения. Рецидив рака желудка после первичного лечения, по нашим данным, развился у двух больных среднего, у 86 больных пожилого, у 11 больных старческого возраста и у одного долгожителя (табл. 1). Случаев развития рецидива рака желудка у больных молодого возраста нами зафиксировано не было.

Распределение больных с рецидивом рака желудка по возрасту и стадии болезни было следующим: в среднем возрасте было диагностировано по одному случаю II и III стадии процесса; в пожилом возрасте больных с I стадией было 10 %, II — 16 %; III — 32 %; IV — 28 %.

Больше всего рецидивов рака желудка развилось в группе больных пожилого возраста, что составило 86 %. При этом максимальное количество случаев рецидива рака желудка пришлось на 12-й, 24-й и 36-й месяцы после операции. Минимальное число рецидивов рака желудка оказалось в группах больных среднего возраста и долгожителей — 2 и 1 случай, соответственно.

Помимо основного заболевания, у больных раком желудка и с его рецидивом диагностирован высокий уровень сопутствующей соматической патологии. Как видно из табл. 2, больше всего сопутствующей патологии было выявлено в группах пожилого и старческого возраста. У 13 больных старших возрастных групп сопутствующая патология явилась абсолютным противопоказанием к хирургическому лечению (табл. 3).

Наличие сопутствующей патологии во многом должно определять сроки предоперационного периода, однако анализ историй болезни показал, что длительность предоперационного периода у боль-

ных в разных возрастных группах достоверно значимо не отличается (табл. 4).

Таблица 4

Продолжительность предоперационного периода у больных раком желудка в зависимости от возраста, n=500

Возраст, лет	Продолжительность предоперационного периода, дней
17–35	10,1±0,9
36–59	13,7±1,8
60–74	10,5±1,8
75–89	11,8±0,9
90 и старше	13,5±0,9

Течение рака желудка у больных пожилого возраста сопровождалось многими другими сопутствующими заболеваниями, что определяло количество проводимых исследований.

На основании вышеизложенного можно заключить, что до 70 % случаев заболевания раком желудка диагностируется в генерализованной стадии процесса. Наиболее высоким риском заболевания раком желудка обладают лица пожилого и старческого возраста, у которых отмечается также максимальное количество осложнений течения рака желудка. Наименее подвержены риску заболевания раком желудка лица в молодом возрасте.

Больные с рецидивом рака желудка составляют 16,6 % от общего количества больных раком желудка. Наиболее часто рецидив рака желудка развивается у больных пожилого возраста в течение 1–3 лет после перенесенной первичной операции. Наиболее эффективным является лечение рака желудка в молодом возрасте, поскольку случаев развития рецидива рака желудка у лиц молодого возраста в нашем наблюдении отмечено не было.

Результаты исследования показали, что до 52 % больных раком желудка, особенно пожилого и старческого возраста, поступают в стационар по неотложным показаниям, что свидетельствует о

несовершенном диагностическом алгоритме выявления заболевания на ранних стадиях.

Литература

1. Давыдов М. И., Тер-Ованесов М. Д. Современная стратегия хирургического лечения рака желудка // Соврем. онкол. 2000. Т. 2. №1. С. 4–10.

2. Звенигородская Л. А., Таранченко Ю. В. Хроническая ишемическая болезнь органов брюшной полости в пожилом и старческом возрасте // Клиническая геронтология. 2002. № 5. С. 184.

3. Звенигородская Л. А., Самсонова Н. Г., Таранченко Ю. В. и др. Особенности эрозивно-язвенного поражения гастродуоденальной зоны у пожилых лиц // Тез. IX Рос. национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2002. С. 166.

4. Портной Л. М., Вотчинин О. В., Стацук Г. А. Рак желудка. Проблемы современной лучевой диагностики // Радиология. 2003. № 3. С. 11–30.

5. Щепотин И. Б., Эванс С. Р. Рак желудка: практическое руководство по профилактике, диагностике и лечению. Киев, 2000.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 326–329

R. V. Ljutov

MORBIDITY OF STOMACH CANCER AND ITS RELAPSE IN PATIENTS OF DIFFERENT AGE

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, NWB of RAMS, 3 pr. Dynamo, St. Petersburg 197110;
email: ljutov@yandex.ru

Timely diagnostics and treatment of the stomach cancer and its relapse in patients of different age is one of the complex problems in geriatrics, surgery and oncology. The peculiarities of clinic course of stomach cancer and its relapse were analyzed in 600 histories. The study revealed the dependence on age of development of stomach cancer and its possible relapse; period of preoperative preparation and effectiveness of the treatment in dependence on the age of the patient. The results demonstrate that elderly and senile patients are of high risk to get the stomach cancer and its relapse; they also often have many complications of the disease. The disease is diagnosed at generalized stage in 70 % of the cases; at the same time 52 % of patients, especially elderly and senior ones, come to the hospital as first aid patients, which confirms the necessity to improve the methods of early diagnostic of the disease.

Key words: *stomach cancer, stomach cancer relapse, elderly patients*

А. С. Матвеева

СИНДРОМ ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНЫ НЁБА У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Санкт-Петербургский НИИ уха, горла, носа и речи Росмедтехнологий, 190013 Санкт-Петербург, ул. Бронницкая, 9;
e-mail: brave-frog@rambler.ru

Врожденные пороки развития, к которым относится и врожденная расщелина нёба, представляют собой серьезную проблему, охватывающую разные стороны жизни общества. Но если пациенты детского возраста получают определенный комплекс реабилитационных мер, то люди пожилого возраста зачастую остаются одни перед лицом осложнений и социальных проблем, связанных с наличием врожденного порока развития. У лиц пожилого возраста врожденная расщелина нёба определяет специфические нарушения жизненных функций, приводящие к ухудшению качества их жизни.

Ключевые слова: пороки развития, врожденная расщелина нёба, пожилые люди

Расщелина губы и/или нёба относится к врожденным порокам развития челюстно-лицевой области. Эта проблема актуальна как в медицинском, так и в социальном аспекте. Частота данной патологии за последние 10–15 лет увеличилась в 1,5 раза [2, 10].

Наличие расщелины верхней губы и нёба существенно влияет на развитие организма человека, на формирование разных функций [1, 4, 5, 14, 15, 18].

Расщелине нёба сопутствуют выраженные нарушения оториноларингологического статуса. Это является результатом особенностей анатомического строения нёба при расщелине, сообщения рото- и носоглотки. Анатомическая, физиологическая и функциональная неполноценность нёба при расщелине усугубляется компенсаторными функциями языка и задней стенки глотки [1, 5, 7].

Многие авторы отмечают, что основным патологическим фактором, вызывающим дисфункцию слуховой трубы, является патологическое прикрепление мышцы, поднимающей мягкое нёбо [14]. Таким образом, нарушение деятельности мягкого нёба изменяет деятельность слуховой трубы, так как в норме мышца, напрягающая мягкое нёбо, расширяет просвет трубы, а мышца, поднимающая мягкое нёбо, расширяет просвет в области перешейка трубы и суживает ее отверстие [4, 8, 10].

У пациентов с врожденными расщелинами отмечается нарушение носового дыхания, — прежде всего за счет возникновения эндоназальных препятствий: гипертрофии носовых раковин, искривления перегородки носа, наличия полипов, аденоидов и сужения носовых отверстий [1, 5]. Нарушение носового дыхания приводит к развитию хронических воспалений в верхних дыхательных путях, а это, в свою очередь, является одной из причин дальнейшей деформации верхней челюсти [10].

Таким образом, при врожденных расщелинах нёба система среднего уха страдает в значительной степени, в первую очередь за счет нарушения проводимости слуховых труб, что ведет за собой снижение слуховой функции. Снижение слуха, в большинстве случаев, является результатом дисфункции слуховых труб вследствие изменения топографии нёбно-глочной области, частых воспалительных процессов в среднем ухе, нарушения пневматизации височных костей [9, 12, 14, 16].

Наблюдающиеся при врожденных расщелинах нёба расстройства слухового восприятия являются, таким образом, следствием патологических процессов в периферическом слуховом аппарате (прежде всего, в виде нарушения звукопроводения — кондуктивной тугоухости) [10].

Одной из задач современного образования и здравоохранения является организация лечения врожденных и приобретенных дефектов и деформаций челюстно-лицевой области и восстановления нормальной речи [2, 4, 10, 17].

Дыхательная недостаточность проявляется в снижении жизненной емкости легких, гипервентиляции за счёт учащения и углубления дыхания, нарушения его ритма.

У 15–18 % больных с врожденной расщелиной нёба выявляются другие пороки, среди которых часто встречается порок сердца.

Для пациентов с врожденной расщелиной нёба характерны множественные аномалии зубочелюст-

ной системы: асимметрия челюстных костей, нарушения функции височно-нижнечелюстного сустава, отсутствие или сверхкомплект зубов, неправильное положение зубов, диастемы, деформация свода полости рта, нарушения прикуса (прогения, ложная прогения, открытый прикус) [3, 6, 11, 13, 17]. Ввиду разных исходов хирургических операций, особенно когда такие операции проводились достаточно давно, встречается сужение верхней челюсти, западение верхней губы, выраженные деформации носа, изменение его формы, что отрицательно сказывается на внешности человека (специфический тип лица) [4, 6, 11].

Для организации реабилитационного процесса пациентов пожилого возраста требуется такой же комплексный подход, как и для пациентов других возрастных групп. Основные жалобы, предъявляемые людьми в пожилом возрасте, касаются организации протезно-стоматологической помощи, оториноларингологической помощи, а также психологической поддержки. Однако выясняется также, что люди по-прежнему беспокоятся по поводу своей внешности и выражают недовольство в связи с недостаточной эффективностью проведенного хирургического лечения, направленного на исправление дефектов челюстно-лицевой области [12, 13, 17, 18].

За рубежом и к детям, и к пожилым пациентам применяют комплексный подход, при котором в реабилитационном процессе участвуют следующие специалисты: пластический хирург, оториноларинголог, сурдолог, стоматолог, психолог, логопед, ортопед. Это обусловлено желанием пациентов улучшить внешний вид, слуховую функцию, разборчивость речи, а также состояние зубов [12, 13, 16, 17].

Конечно, для лиц пожилого возраста хирургическое лечение послеоперационных деформаций представляет определенные трудности ввиду того, что оперативное лечение по закрытию расщелины проводилось в давние сроки, но, тем не менее, теоретически такое лечение возможно. К решению этих же проблем следует отнести также пластические операции по изменению формы губ, носа, удалению шрамов и рубцов [13, 17].

Особую актуальность для лиц пожилого возраста приобретает качество стоматологической помощи, а именно протезирования. Очевидно, что пациенты данной возрастной группы испытывают определенные неудобства в связи с нарушением строения челюстно-лицевой области, неправильной посадкой, ростом, конфигурацией и отсутствием

зубов, что может быть следствием также и перенесенных операций по поводу расщелины губы и неба, ортодонтических операций, проведенных ранее [13, 17, 18].

Кроме того, состояние зубов и челюстей, протезирование и его результаты могут негативно сказаться на качестве речи, ухудшая ее разборчивость и провоцируя дефекты звукопроизношения и усиление гнусавости. Пожилые люди, не имеющие врожденных пороков развития челюстно-лицевой области, нередко предъявляют жалобы на ухудшение качества речи при ношении съемных протезов, в случае же наложения этих процедур на последствия врожденного порока развития ситуация еще более осложняется [3, 8, 11, 13, 17].

Таким образом, усовершенствование реабилитационных мер, заключающееся в комплексном подходе с привлечением различных специалистов, для лиц с врожденными пороками развития неба и верхней губы является основой для улучшения качества жизни в пожилом возрасте.

Литература

1. *Ананян С. Г.* Оценка резонаторных полостей артикуляционного аппарата при небно-глоточных дисфункциях // В кн.: Функционально-эстетическая реабилитация больных с врожденными расщелинами лица: Матер. Всерос. конф. Нальчик: Изд. Каб.-Балк. ун-та, 2002. С. 34–38.
2. *Блохина С. И.* Медико-социальная реабилитация больных с врожденными расщелинами лица и неба в условиях специализированного центра: Автореф. дис. докт. мед. наук в виде научного доклада. М., 1992.
3. *Борисов А. М.* Деформация верхней губы после различных методов хейлопластики // В кн.: Актуальные проблемы стоматологии детского возраста: Сб. науч. тр. / Под ред. А. А. Колесова. М.: ММСИ, 1974. С. 95–98.
4. *Дмитриева В. С., Ландо Р. Л.* Хирургическое лечение врожденных и послеоперационных дефектов неба. М.: Медицина, 1968.
5. *Карякина И. А., Милешина Н. А., Виссарионов В. А., Мохова Э. П.* Характеристика показателей носового дыхания и слуха у больных до и после односторонней ринохейлопластики // В кн.: Наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Матер. конф. М.: Изд. МГМСУ, 2002. С. 127–129.
6. *Козин И. А.* Вторичные деформации лица после устранения врожденных двусторонних расщелин верхней губы и неба и их хирургическое лечение: Автореф. дис. докт. мед. наук. М., 1983.
7. *Милешина Н. А., Карякина И. А., Соколова А. В.* и др. Роль отоларинголога в комплексной реабилитации больных с врожденной расщелиной верхней губы и неба // В кн.: Функционально-эстетическая реабилитация больных с врожденными расщелинами лица: Матер. Всерос. конф. Нальчик: Изд. Каб.-Балк. ун-та, 2002. С. 45–46.
8. *Митринович-Моджаевска А.* Патофизиология речи, голоса и слуха. Варшава, 1965.
9. *Семенченко Г. И., Вакуленко В. И., Крыкляс Л. Я.* Нарушения слуха и речи при врожденных незаращениях лица. Киев: Здоров'я, 1977.
10. *Харьков Л. В.* Хирургическое лечение врожденных незаращений неба. Киев: Здоров'я, 1992.

11. Хорошилкина Ф. Я., Гранчук Г. Н., Постолаки И. И. Ортодонтическое и ортопедическое лечение аномалий прикуса, обусловленных врожденными несращениями в челюстно-лицевой области. Кишинев: Штиинца, 1989.

12. Antony P., Antony L. Hearing loss in prosthetically treated adults with cleft palate // Ann. Plastic Surg. Vol. 57. № 1. July 2006. P. 50–54.

13. Marcusson A., Paulin G., Östrup L. Facial appearance in adults who had cleft lip and palate treated in childhood // Scand. J. Plast. Reconstructive Surg. Hand Surg. 2002. Vol. 36. № 1. P. 16–23(8).

14. Matsune S., Sando I., Takahashi H. Insertion of the tensor veli palatine muscle into the eustachian tube cartilage in cleft palate cases // Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 1991. Vol. 100. P. 439–446.

15. Maue-Dickson W., Dickson D., Rood S. Anatomy of the eustachian tube and related structures in age matched human fetuses with and without cleft palate // Trans. Amer. Acad. Ophthal. Otolaryng. 1976. № 82. P. 159–163.

16. Pannbacker M. Hearing loss and cleft palate // Cleft Palate J. 1969. № 6. P. 50–56.

17. Walter J. Webbing of the pharyngeal recess in adults with cleft palate // The Cleft Palate-Craniofacial J. 1990. Vol. 27. № 4. P. 411–414.

18. Yong L., Bing S., Zheng Q. et al. Analysis of Velopharyngeal Morphology in Adults With Velopharyngeal Incompetence After Surgery of a Cleft Palate // ANZ J. Surg. Vol. 8. № 1. 2006. P. 82–84.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 330–332

A. S. Matveeva

CLEFT PALATE SYNDROME IN ELDERLY PATIENTS

St. Petersburg Institute of Ear, Nose, Throat, and Speech, 9 Bronnitskaya ul., St. Petersburg 190013;
e-mail: brave-frog@rambler.ru

Congenital defects including cleft palate are the serious problem which occupies different sides of society's life. Patients of young age get definite rehabilitation but elderly people are often really alone with cleft palate negative symptoms. Special disorders of life functions in elderly people are provided by cleft palate.

Key words: congenital defects, cleft palate, elderly people

А. С. Матвеева, Ю. К. Янов

ВЛИЯНИЕ СИНДРОМА ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНЫ НЁБА НА КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Санкт-Петербургский НИИ уха, горла, носа и речи Росмедтехнологий, 190013 Санкт-Петербург, ул. Бронницкая, 9;
e-mail: brave-frog@rambler.ru

Настоящая работа посвящена проблеме врожденного порока развития — расщелины нёба у людей пожилого возраста. В Российской Федерации этот вопрос изучен очень слабо, тогда как за рубежом периодически проводятся исследования по определению направлений реабилитации пациентов данной группы с учетом возрастных особенностей. В статье изложены основные характеристики синдрома врожденной расщелины нёба у людей пожилого возраста, а также рассмотрена степень влияния проявлений этого синдрома на качество жизни людей.

Ключевые слова: расщелина нёба, пожилые пациенты, комплексная реабилитация, качество жизни

Проблема врожденных пороков развития человека является актуальной в медицинском, психолого-педагогическом и социальном аспектах. Частота пороков в популяции является важным показателем состояния здоровья населения [2, 4, 5, 10, 11].

Одной из задач современного здравоохранения является организация лечения и реабилитации людей с врожденными и приобретенными дефектами и деформациями челюстно-лицевой области, а также восстановления нормальной речи, слуховой функции, анатомии челюстно-лицевой области [2, 4, 8, 10–12].

Среди врожденных пороков развития наиболее распространены пороки челюстно-лицевой области. Так, по данным ряда авторов, в общей структуре врожденных пороков развития на расщелины губы и нёба приходится до 26 %, врожденные расщелины нёба стоят на 4–7-м месте, лидируя по тяжести анатомических и функциональных нарушений [2, 4, 5, 8, 11].

Повсеместно при изучении показателей здоровья детей отмечен стабильный рост частоты рождения детей как с врожденными пороками развития, так и с врожденными расщелинами верхней губы и нёба. Последние представляют собой сложную медицинскую и социальную проблему [2, 4, 8, 11].

Многофакторность признаков и разнообразие патологических проявлений, а также сложность причинно-следственных механизмов развития данной патологии не позволяют однозначно решить проблему реабилитации таких пациентов. Эта проблема является актуальной как для практического здравоохранения, так и для многих отраслей науки [10–12].

Врожденная расщелина нёба (ВРН) представляет собой щель на одной или обеих сторонах нёба. ВРН может быть разнообразной по форме и по протяженности. Часто она бывает продолжением расщелины верхней губы и альвеолярного отростка, она может распространяться по всему нёбу или по его отдельному участку [10, 11].

ВРН характеризуются сложным комплексом местных и общих нарушений, при этом наблюдается взаимосвязь между тяжестью анатомо-топографической картины расщелины и степенью патологических проявлений функции [2, 10, 11].

При ВРН на фоне первичных анатомических нарушений с первых дней жизни развиваются и функциональные. Это вторичные деформации челюстей, зубов, мягких тканей лица [1, 3, 6, 7]. К анатомическим причинам искажения голоса и речи следует относить и наличие зубочелюстных деформаций. Смещение верхней челюсти кзади сочетается с уменьшением длины верхней челюсти в сагитальном направлении; передний отдел верхней челюсти недоразвит, отмечается преобладание у больных прямого прикуса, отставание развития верхней челюсти, западение щек и уплощение верхней губы [15–19]. Наблюдается также ряд патологических изменений в полости носа, которые, в свою очередь, могут приводить к развитию хронического воспаления среднего уха, хроническим изменениям нижних дыхательных путей [1, 3, 8].

Такие заболевания ЛОР-органов, как ринит, средний отит, синусит, тонзиллит, аденоиды, ту-

гоухость встречаются у людей с врожденными расщелинами в 10 раз чаще, чем у людей с нормальным небом [4, 13, 18–21]. В слуховом аппарате возникают патологические изменения, способствующие нарушению слуховой функции, а это, в свою очередь, влияет на процесс артикуляции звуков. В 98 % случаев расщелина неба сопровождается заболеваниями среднего уха [18–20].

В связи с тем, что функциональная способность смыкания в мышцах нёбно-глоточного кольца, стенок глотки, нёбной занавески нарушается, у детей вырабатываются компенсаторные функциональные изменения, которыми пациенты пытаются возместить мышечную и костную недостаточность. К таким изменениям относятся, прежде всего, оттягивание языка к глотке, причем язык гипертрофируется, гипертрофируются также нёбные миндалины, носовые раковины, деформируется сошник, вследствие чего невозможен полноценный контакт артикуляторов с альвеолярным отростком, что вызывает нарушения звукопроизношения, появляется «речь в нос» [10, 11].

По мере взросления пациента ВРН не исчезает (даже при проведении того или иного комплекса реабилитационных мер), а переходит в другое состояние. Даже рано проведенное оперативное вмешательство не отменяет необходимости длительного ортопедического, стоматологического, оториноларингологического и речетерапевтического лечения. Более того, наличие синдрома нарушений, связанных с ВРН, зачастую обуславливает появление вторичных психологических патологических проявлений, характеризующих изменения в эмоционально-волевой сфере [14]. Особенности характера, частые госпитализации, применение наркоза, использование болезненных и длительных по временной протяженности процедур реабилитации негативно сказываются на формировании личности пациента.

В отечественной литературе проблема качества жизни и здоровья лиц пожилого возраста с ВРН освещена крайне скудно. Некоторая часть научно-практических разработок и исследований касается, в частности, вопросов ортодонтического и стоматологического лечения [9], так как в пожилом возрасте основным направлением реабилитационных мер является ортопедическая помощь, а именно протезирование. К особенностям клинической картины нарушений строения челюстно-лицевой зоны авторы [6–9] относят недоразвитие переднего отдела верхней челюсти — отсутствие полноценной костной ткани в зоне расщелины, подвижность

центрального фрагмента; мезиальную окклюзию (прогеническое соотношение зубных рядов). При двустороннем полном незаращении губы и неба межчелюстная кость бывает отделена от челюсти. Она подвижна, а иногда вообще удаляется в ходе предыдущей операции. Это способствует образованию дефекта протезного ложа с рубцово-измененной слизистой оболочкой [9, 14–17, 19]. При удалении межчелюстной кости возникает существенное несоответствие между верхней и нижней челюстями в сагиттальной плоскости. Иногда центральный фрагмент верхней челюсти смещается в вестибулярную сторону, одновременно увеличивая дефект альвеолярного отростка. Это обусловлено несколькими факторами: генетической предрасположенностью, отсутствием тонизирующего влияния верхней губы, искусственным вскармливанием, нарушением носового дыхания, неправильным положением языка.

Кроме перечисленных симптомов, клиническую картину осложняют отсутствие зубов в линии расщелины, аномалии положения отдельных зубов, послеоперационная деформация твердого неба и альвеолярной части верхней челюсти [9]. Наиболее грубые деформации средней зоны лица обнаружены у взрослых пациентов, перенесших раннюю хейло- и уранопластику. У пациентов наблюдается высокая интенсивность кариеса, заболевания пародонта, рубцовые изменения в области верхней губы и крыла носа, функциональные нарушения (дыхания, жевания, речи), имеются психологические проблемы. Следует отметить, что все вышеперечисленное характерно для пациентов, проходивших хирургическое лечение, и для тех, кто не состоял на диспансерном учете по каким-либо причинам. Разница между этими пациентами заключается лишь в выраженности деформаций мягких тканей и степени нарушения окклюзии [7–9, 14–16].

У лиц пожилого возраста наличие проблемных зон, связанных с симптомами ВРН, приводит, таким образом, к нарушению важных жизненных процессов, таких как глотание, жевание, и, следовательно, может стать причиной нарушения питания, что, в свою очередь, снижает качество жизни людей с врожденным пороком развития. По данным зарубежных авторов, в пожилом возрасте пациенты данной группы по-прежнему нуждаются в реабилитационном лечении как минимум по трем направлениям — психологическом, ортопедическом и логопедическом [23].

Хронические заболевания ЛОР-органов и снижение слуха, обусловленное наличием синдро-

ма ВРН, выступают еще одним фактором ухудшения качества жизни пациентов данной возрастной группы. Возрастные изменения, накладывающие отпечаток на величину порогов слухового восприятия, совмещаются с изначально имевшей место кондуктивной тугоухостью. Повышение порогов слухового восприятия затрудняет коммуникативные возможности пациентов и ограничивает их общение [14, 15, 18, 21–23].

По данным ряда зарубежных авторов, взрослые и пожилые люди с ВРН значительно чаще, чем их сверстники без данного порока развития, обращаются за медицинской помощью по поводу снижения слуха и заболеваний ЛОР-органов [23]. Однако, по сравнению с ситуацией в России, основными проблемами пожилых пациентов с ВРН в западных странах являются ортопедические, психологические и речевые, тогда как заболевания ЛОР-органов и снижение слуха составляет менее значительную часть жалоб и обращений за медицинской помощью.

Для всех пациентов пожилого возраста, тем не менее, наиболее критичной выступает проблема гнусавости — «речи в нос», которая во многих случаях крайне тяжело поддается коррекции и лечению. Это связано с тем, что первичное хирургическое лечение у лиц пожилого возраста проводилось достаточно давно, причем не в раннем возрасте. А речеулучшающие операции внедрены в практику реабилитационного процесса относительно недавно. Поэтому говорить о возможностях улучшения качества речи хирургическими методами, к которым относятся разные виды фарингопластики, для людей старше 60 лет не имеет смысла.

Пожилые люди с врожденными пороками развития, в том числе с ВРН, нуждаются в продолжении комплексного реабилитационного процесса, предполагающего участие в нем ортопед-стоматолога, оториноларинголога, психолога, логопеда. Наличие определенных патологических проявлений со стороны ряда органов и систем, в первую очередь зубочелюстной системы, а также ЛОР-органов, слуха, речевой системы и психологического статуса, приводит к ухудшению качества жизни пациентов старших возрастных групп.

Литература

1. Безруков В. М. Клиника, диагностика и лечение врожденных деформаций средней зоны лицевого скелета: Автореф. дис. докт. мед. наук. М., 1981.

2. Белякова С. В., Фролова Л. Е. Врожденные пороки развития лица и челюстей: заболеваемость, смертность, факторы риска // *Стоматология*. 1995. Т. 74. № 5. С. 72–74.

3. Бердюк И. В. Патогенез и методы устранения деформаций носа, сопутствующих врожденным расщелинам верхней губы: Автореф. дис. канд. мед. наук. Киев, 1985.

4. Блохина С. И. Медико-социальная реабилитация больных с врожденными расщелинами лица и неба в условиях специализированного центра: Автореф. дис. докт. мед. наук в виде научного доклада. М., 1992.

5. Давыдов С. Н., Лавриков В. Г., Зернов А. В., Степина С. В. Основные принципы комплексного подхода в лечении больных с врожденными расщелинами // В кн.: *Наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Матер. конф. М.: Изд-во МГМСУ, 2002. С. 80–82.*

6. Каламкар Ж. А., Рабухина Н. А., Безруков В. М. Деформации лицевого черепа. М.: Медицина, 1981.

7. Корнюшин Н. И., Оспанова Г. Б. Ортодонтическая коррекция и протезирование больных с расщелиной губы, альвеолярного отростка и твердого неба // *Новое в стоматологии (спецвыпуск)*. 1994. С. 29–34.

8. Лимберг А. А. Задача лечебной и научно-исследовательской деятельности в организации комплексной специализированной помощи при врожденных расщелинах губы и неба // В кн.: *Врожденные расщелины верхней губы и неба*. М.: Медицина, 1964. С. 11–17.

9. Лопухова Н. Б. Клиническая картина и особенности ортопедического лечения взрослых пациентов с врожденной расщелиной губы и неба // В кн.: *Стоматология*. М.: Изд-во «Медиа Сфера», 2002.

10. Малевич О. Е. Функциональные сдвиги в организме больных при врожденных расщелинах лица и их роль в процессе хирургического лечения: Автореф. дис. докт. мед. наук. Одесса, 1971.

11. Мамедов А. А. Врожденная расщелина неба и пути её устранения. М.: Детстемиздат, 1998.

12. Мамедов Э. В., Бельченко В. А., Притыко А. Г. Врожденная патология челюстно-лицевой области: Актуальность и этиология // В кн.: *Наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Матер. конф. М.: Изд-во МГМСУ, 2002. С. 158–160.*

13. Милешина Н. А., Карякина И. А., Соколова А. В. и др. Роль отоларинголога в комплексной реабилитации больных с врожденной расщелиной верхней губы и неба // В кн.: *Функционально-эстетическая реабилитация больных с врожденными расщелинами лица: Матер. Всерос. конф. Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2002. С. 45.*

14. Панин М. Г., Иванов С. Ю., Михайлова В. В. Психологическая оценка больных с врожденными деформациями челюстей // В кн.: *Наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Матер. конф. М.: Изд-во МГМСУ, 2002. С. 195–200.*

15. Панин М. Г., Иванов С. Ю., Шишканов А. В., Коинова З. Д. Состояние костной ткани челюстей при врожденных и приобретенных деформациях // В кн.: *Наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Матер. конф. М.: Изд-во МГМСУ, 2002. С. 200–204.*

16. Хорошилкина Ф. Я., Гранчук Г. Н., Постолаки И. И. Ортодонтическое и ортопедическое лечение аномалий прикуса, обусловленных врожденными несращениями в челюстно-лицевой области. Кишинев: Штиинца, 1989.

17. Andlin-Sobocki A. et al. Periodontal evaluation of teeth in bone grafted regions in patients with unilateral cleft lip and palate // *Amer. J. Orthod Dentof Orthop*. 1995. Vol. 107. P. 144–152.

18. Bishara S. E., Krauze C. J. et al. Facial and dental relationships of individuals with unoperated clefts of the lip and/or palate // *Cleft Palate J*. 1976. Vol. 13. P. 238–252.

19. *Lokman S., Loh T., Said H.* Incidence and management of middle ear effusion in cleft palate patients // *Med. J. Malaya.* 1992. № 47. P. 51–55.

20. *Matsune S., Sando I., Takahashi H.* Insertion of the tensor veli palatine muscle into the eustachian tube cartilage in cleft palate cases // *Ann. Otol. Rhinol. Laryng.* 1991. Vol. 100. P. 439–446.

21. *Maue-Dickson W., Dickson D., Rood S.* Anatomy of the eustachian tube and related structures in age matched human

fetuses with and without cleft palate // *Trans. Amer. Acad. Ophthal. Otolaryng.* 1976. № 82. P. 159–163.

22. *Pannbacker M.* Hearing loss and cleft palate // *Cleft Palate J.* 1969. № 6. P. 50–56.

23. *Cher Bing Chuo, Searle Y., Jeremy A.* et al. The continuing multidisciplinary needs of adult patients with cleft lip and/or palate // *Cleft Palate-Craniofacial J.* 2008. № 63. P. 48–53.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 333–336

A. S. Matveeva, Yu. K. Yanov

EFFECT OF CLEFT PALATE SYNDROME ON QUALITY OF LIFE OF ELDERLY PATIENTS

St. Petersburg Institute of Ear, Nose, Throat, and Speech, 9 Bronnitskaya ul., St. Petersburg 190013;
e-mail: brave-frog@rambler.ru

The study is devoted to the problem of congenital disorder — cleft palate in elderly population. This theme is almost not investigated in the Russian Federation, whereas such studies are periodically made abroad and foreign investigations describe tasks of rehabilitation of this group of patients including their age features. Main characteristics of cleft palate syndrome and its influence on quality of life are described in the article.

Key words: *cleft palate, aged patients, complex rehabilitation, quality of life*

В. Ф. Пятин¹, И. В. Широлапов¹, О. Л. Никитин²

РЕАБИЛИТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВИБРАЦИОННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ В ГЕРОНТОЛОГИИ

¹ Самарский государственный медицинский университет, 443079 Самара, ул. Гагарина, 18;

² Гериатрический научно-практический центр, 443079 Самара, пр. Карла Маркса, 165-Б; e-mail: ishirolapov@mail.ru

В основе реакции физиологических систем организма человека при вибрационной физической нагрузке (синоним — тренинг ускорением) лежит интенсивная проприоцептивная стимуляция скелетных мышц. Данное воздействие обладает широким спектром положительных результатов. Показана высокая эффективность данного тренинга для лечения остеопороза и снижения избыточного веса, реабилитации двигательных расстройств при болезни Паркинсона, восстановлении функций нервной системы при рассеянном склерозе и у людей с инсультом в анамнезе, в реабилитации лиц после длительного пребывания на больничной койке.

Ключевые слова: *вибрационная физическая нагрузка, тренинг ускорением, интенсивная проприоцептивная стимуляция*

В восстановительной медицине широко применяют нагрузку с дополнительным отягощением для реабилитации физиологических функций организма человека, в том числе у пожилых. Однако многим людям пожилого возраста не подходит подобная нагрузка в силу разных причин (отсутствие мотивации, слабое физическое состояние и необходимость внешней помощи, быстро наступающая усталость, технические особенности тренажеров). В последнее время все большее внимание ученых и практиков привлекает один из способов биомеханической стимуляции — вибрационная физическая нагрузка (синоним — тренинг ускорением). В современных приборах типа аутентичного циклоидного генератора тренажера «Power Plate» основное стимулирующее действие оказывает импульсное ускорение, создаваемое вибрацией благодаря смещению платформы тренажера в трех взаимно перпендикулярных плоскостях, преимущественно — по вертикальной оси (режим работы: частота 30–50 Гц, длительность одного упражнения 30–60 с, амплитуда смещения платформы 2–4 мм). Также в исследованиях и клинической практике применяют виброплатформы «Galileo 2000», «Nemes Bosco System», однако эти тренажеры являются одно- либо двухплоскостными.

Вибрационная физическая нагрузка вызывает рефлекторную реакцию скелетных мышц в виде последовательности малых, близких к изометрическим, произвольных сокращений мышцы с частотой, равной частоте вибрационного воздействия на нервомышечную систему человека. Физиологической основой ответов организма на данное воздействие является интенсивная стимуляция мышечных веретен [9]. В ряде исследований изучено действие однократной вибрационной физической нагрузки, то есть эффекты одного упражнения на тренажере длительностью 30–60 с с различной частотой вибрационного стимула и амплитудой смещения платформы или одной тренировочной сессии длительностью 30 мин, включающей разминочные, силовые и релаксационные упражнения, а также периоды отдыха между каждым упражнением. Другие исследователи изучали эффекты длительной программы вибрационной физической нагрузки (3, 6, 12 мес) в условиях трех тренировочных сессий в неделю длительностью 30 мин каждая, при этом интенсивность тренинга нарастала согласно принципу прогрессии (увеличение продолжительности одного вибрационного упражнения, числа серий одного упражнения или количества различных упражнений, укорочение времени отдыха, а также увеличение частоты вибрационной стимуляции и амплитуды смещения платформы). Под воздействием импульсного ускорения двукратно усиливается кровоток в сосудах мышц и кожи тренируемой области тела, возрастает лимфодренаж и венозный отток. Вибрационная физическая нагрузка оказалась высокоэффективной для лиц пожилого возраста при лечении остеопороза и снижении избыточного веса, реабилитации двигательных расстройств при болезни Паркинсона, восстановлении функций центральной нервной системы при рассеянном склерозе. Доказана эффективность тренинга

ускорением при реабилитации лиц после длительного пребывания на больничной койке.

Мышечно-сухожильный аппарат и координация движений

Профессор В. Т. Назаров впервые применил вибрационное воздействие в виде биомеханической стимуляции в дополнение к традиционным физическим нагрузкам для тренировки профессиональных спортсменов для улучшения их спортивных показателей [1]. Автор использовал оригинальные устройства для генерации вибраций и добивался быстрого увеличения объема движений, мышечной силы, выносливости атлетов и снижения болевой чувствительности [1, 16]. Главным механизмом, лежащим в основе полученных результатов, В. Т. Назаров назвал инициируемую вибрационным воздействием активацию так называемой мышечной помпы, приводящую к значительному улучшению циркуляции крови в мышцах.

Вибрационная физическая нагрузка является эффективной как при однократном воздействии, так и в результате постоянных тренировочных сессий, повышая показатели функциональной активности нейромышечной системы. Данное воздействие оказывает выраженное положительное влияние на физическую активность пожилых пациентов: результаты функциональных тестов после реабилитационной сессии значительно выше у пациентов в экспериментальной группе, чем в группе сравнения, занимающихся резистивным тренингом, и в группе плацебо [5, 22]. Включение вибрационной физической нагрузки в традиционный тренинг с физическими упражнениями на растяжение достоверно повышает гибкость, а также подвижность суставов верхних и нижних конечностей, скорость двигательных актов и способствует увеличению объема движений. Результаты исследований позволяют рекомендовать вибрационную физическую нагрузку в качестве метода профилактики возрастной мышечной гипотрофии [8, 20, 23].

Развивающаяся мышечная слабость у пожилых является одним из главных факторов риска случайных падений и переломов костей. Исследования с воздействием на организм пожилых пациентов тренинга ускорением, проводимые в течение 6 мес, а также одного года, показали, что вибрационная физическая нагрузка достоверно увеличивает изометрическую и взрывную силу мышц нижних конечностей у испытуемых на 10 и 20%, соот-

ветственно, и мышечную массу — на 3,4%. Это может способствовать устранению симптомов при ассоциированной с возрастом потере массы скелетной мускулатуры (саркопении). При этом вибрационный тренинг минимизирует стресс физической нагрузки и потребность в сознательном напряжении костно-мышечной, респираторной и дыхательной систем [4]. 2–3 месяцев тренинга ускорением достаточно для улучшения динамических показателей нейромышечной системы, необходимых в повседневной деятельности пожилого человека и прямо отражающихся на качестве жизни: это включает скорость ходьбы, длину шага и максимальное время стояния на одной ноге [13, 14].

Вибрационный физический тренинг достоверно улучшает показатели теста на равновесие и позную устойчивость у пожилых, что способствует снижению риска падений. Улучшение показателей локомоции при помощи научения и тренировки сходных двигательных паттернов происходит на фоне улучшения центрального и проприорецептивного контроля двигательной активности [18].

Увеличение силы произвольного мышечного сокращения и улучшение координации и проприорецептивного контроля положения тела в пространстве продемонстрировано у пожилых лиц с инсультом в анамнезе, а также у пациентов с болезнью Паркинсона. Общее улучшение двигательных навыков по разным показателям в экспериментальной группе составляет около 20%. При этом, у пациентов с болезнью Паркинсона наиболее выражено уменьшаются тремор и ригидность (на 25 и 24%, соответственно). Улучшение координации и равновесия положительно отражается на активных движениях пациентов, что позволяет рекомендовать физический тренинг ускорением в качестве дополнения к стандартным реабилитационным программам больных неврологического профиля, имеющих нервно-мышечные нарушения [12].

Разные программы традиционного резистивного тренинга, нацеленные на развитие основных мышечных групп, обеспечивающих локомоцию человека, по общей продолжительности нагрузки (включая периоды отдыха), интенсивности (70–80% от максимальной сопротивляемости) и числа повторений могут достигать особенно высоких нагрузок для пожилого человека. Поэтому отсутствие мотивации и утомление — симптомы, отмечаемые более 90% пациентов лечебных учреждений для хронических больных, — снижают возможность применения интенсивной физической нагрузки

у ослабленных пожилых людей. Показано, что вибрационная физическая нагрузка возможна и эффективна для пожилых людей с ограниченными функциональными возможностями (слабость опорно-двигательного аппарата, нарушения центрального контроля двигательных актов), при этом снижается риск падений, улучшается подвижность таких пациентов и качество жизни в целом. Данные рандомизированных исследований доказывают, что применение вибрационного тренинга в комплексе со стандартными физиотерапевтическими и резистивными упражнениями для реабилитации и развития функций у пожилых (ходьба, тренировка равновесия тела, силовые упражнения с резистивной мобилизацией нижних конечностей и прочее) способствует улучшению функциональных показателей работы нервной и мышечной систем. В ряде исследований показано, что 6-недельная программа увеличивала показатели тестов на равновесие, позный контроль, максимальную силу мышц, гибкость и подвижность (средний возраст испытуемых — 77 лет). При этом исследуемые показатели были значительно выше у испытуемых группы комбинированного тренинга (с добавлением вибрационной нагрузки), по сравнению с таковыми у пожилых пациентов, занимающихся исключительно физиотерапевтическим лечением и резистивным тренингом [2, 7].

В основе улучшения показателей физической активности при вибрационной физической нагрузке лежит нервно-мышечная адаптация. Механизм адаптации связан с «тоническим вибрационным рефлексом» как классическим ответом скелетных мышц на вибрационный раздражитель, направленный вдоль мышечных волокон. Рефлекс проявляется в виде цепи физиологических, близких к изометрическим, произвольных мышечных сокращений с частотой, равной частоте стимуляции (30–50 Гц). Возникающий при этом поток нервных импульсов от мышечных веретен к α -мотонейронам спинного мозга передается, преимущественно, по Ia-афферентам [9]. При воздействии ускорением электромиографически выявлена активация до 100 % скелетных мышечных волокон. Интенсивная стимуляция проприорецепторов при воздействии ускорением вызывает повторное рекрутирование молчащих двигательных единиц и временное поддержание их в состоянии высокой активности даже в утомленных мышцах. В возникающем при этом утомлении ведущее значение имеет периферический механизм на фоне нормаль-

ного уровня молочной кислоты в крови, который достоверно не повышается после вибрационного тренинга ускорением [19].

Плотность костной ткани и постменопаузальный остеопороз

Поскольку средняя продолжительность жизни населения в мире увеличивается, остеопороз и переломы из-за понижения плотности костей становятся все более важными проблемами здравоохранения. Проксимальный перелом бедра является самым серьезным осложнением остеопороза. Смертность пациентов с переломом бедра на 12–20 % выше, чем у людей того же пола и возраста без перелома. Из тех, кто перенес операционное вмешательство по поводу перелома бедра из-за остеопороза, лишь $1/3$ сохраняют свой прежний, то есть до перелома, функциональный статус. В настоящее время большинство стратегий по лечению постменопаузального остеопороза сосредоточено на противорезорбтивных лекарственных препаратах.

У пожилых людей вибрационный физический тренинг, по сравнению с традиционной нагрузкой (ежедневные прогулки, упражнения на растяжение, резистивный тренинг), имеет достоверно лучшие результаты в увеличении плотности костной ткани и снижении риска падений и переломов костей, значительно улучшает контроль позы тела и равновесие, что, в целом, положительно отражается на качестве жизни людей старшей возрастной группы. Так, при исследовании влияния вибрационного физического тренинга на плотность костной ткани у женщин в постменопаузе получен значительный положительный результат: после 6 мес воздействия плотность бедренной кости увеличилась на 0,93 %, в то время как в группах сравнения и контроля (резистивный тренинг и отсутствие тренировок) наблюдалась резорбция костной ткани (снижение плотности костной массы на 0,60 и 0,62 %, соответственно). На фоне повышения плотности костной ткани, у пациентов происходило увеличение статической и динамической силы мышц на 15 и 16 %, соответственно [26].

В исследовании С. Rubin (2004) 12-месячная вибрационная стимуляция способствовала увеличению плотности шейки бедренной кости на 0,04 %, в сравнении с потерей костной массы на 2,13 % в группе плацебо, что составило суммарную эффективность вибрационного воздействия 2,17 %. Одновременно была продемонстрирована суммар-

ная эффективность вибротренинга для поясничного отдела позвоночного столба, равная 1,5 % (снижение плотности костной ткани в поясничном отделе позвоночника на 0,1 и 1,5 % для группы вибрационной физической нагрузки и плацебо, соответственно). Отмечается зависимость эффективности вибрационной физической нагрузки для профилактики остеопороза от массы тела: женщины менее 65 кг имеют достоверно лучшие результаты, в сравнении с пациентками большей массы [21].

В исследованиях установлены две пороговые нагрузки ускорением, влияющие на контроль моделирования—ремоделирования костной ткани. Если средняя нагрузка, действующая на кость, не превышает первый порог — порог ремоделирования (800 микрогрейн), то происходит разрежение костной ткани, то есть снижение ее плотности. При нагрузке, колеблющейся в пределах около 800—1600 микрогрейн, процессы формирования и резорбции костной ткани сбалансированы, плотность костной массы поддерживается на одном уровне. Если нагрузка на кость регулярно превышает второй порог — порог моделирования (порядка 1600 микрогрейн), это способствует увеличению плотности и упругости кости, причем при частоте 1 Гц вибрационного воздействия на кости человека порог моделирования должен превышать 1500 микрогрейн. При нагрузке ускорением, вызванной вибрацией частотой 30 Гц, достаточной силы в 50 микрогрейн для достижения аналогичного результата. Наряду с этим, действие вибрационной физической нагрузки на костную ткань объясняется эффектами стохастического резонанса, усилением скорости жидкостного тока в микроканалах костей, синтезом биологически активных веществ — стимуляторов роста костной ткани и др. [10, 24, 25].

Гормональный фон

Эндокринная и иммунная системы, так же как и нервная, являются регуляторными системами организма и выполняют общую функцию поддержания гомеостаза. Регуляция функций организма обеспечивает физиологическую меру реакции на действие факторов внутренней и внешней среды. Однократная тренировочная сессия ускорением длительностью 10 мин повышает в плазме крови уровни анаболических гормонов (гормон роста, инсулиноподобный фактор роста-1, тестостерон), стимулирует секрецию адреналина, норадреналина и серотонина. Одновременно снижается либо ста-

билизируется в плазме крови концентрация кортизола, что указывает на отсутствие значительного стрессорного действия при тренировке ускорением. Длительная 12-недельная программа вибрационной физической нагрузки ускорением также вызывает достоверные изменения гормонального профиля у тренирующихся. Увеличиваются сыровоточные концентрации гормона роста, тестостерона и адреналина, при этом ответ гормона роста и серотонина наиболее выражен у лиц женского пола, а тестостерона — у мужского, с тенденцией снижения различий между полами к концу 12 нед тренинга. Несмотря на высокую интенсивность физической нагрузки, уровень кортизола достоверно не повышается. Данные изменения в гормональном фоне, как известно, сопровождаются улучшением мышечной деятельности, в основном в показателях взрывной силы [6, 11].

Кровообращение и сердечно-сосудистая система

В исследовании J. Rittweger (2000) частота сердечных сокращений у молодых испытуемых после истощающей вибрационной физической нагрузки не превышала 130 уд/мин, при этом поглощение кислорода возрастало на 48,8 %, а систолическое давление не поднималось выше нормальных значений. Неожиданным оказалось снижение у некоторых испытуемых диастолического давления до 50 мм рт. ст., вероятно в результате периферической вазодилатации. Уровень молочной кислоты в крови увеличивался незначительно — до 3,5 ммоль, что было в 2 раза ниже, чем в группе сравнения (велотренажер). По предположению авторов, риск сердечно-сосудистых осложнений у пожилых людей при данном виде тренировок незначительный [19].

Одним из важных эффектов вибрационной физической нагрузки является двукратное усиление кровотока в тканях. Так, 5—10-минутная тренировочная сессия ускорением вызывает увеличение скорости кровотока в подколенной артерии с 6,5 до 13 см/с. При длительности тренинга ускорением 5 мин достоверное увеличение скорости кожного кровотока наблюдается к 4-й минуте и достигает максимума на 5-й минуте воздействия, при этом существует прямая зависимость между частотой вибрационного стимула и увеличением скорости кожного кровотока, а также продолжительностью эффекта [15, 17]. Данные наблюдения явились

основой использования вибрационного тренинга у людей с нарушенной периферической микроциркуляцией, к примеру у больных диабетом.

Длительное нахождение в горизонтальном положении (постельный режим) приводит в условиях адинамии к значительному уменьшению диаметра сосудов артериального русла. В исследованиях влияния тренинга ускорением на периферическое кровообращение у пациентов, длительно пребывающих на постельном режиме, показана возможность эффективно предотвращать данную реакцию сосудов. Так, диаметр общей бедренной артерии после сессии тренинга ускорением снижается только на $5 \pm 2\%$ через 25 дней и на $6 \pm 2\%$ после 52 дней, по сравнению с контрольной группой (13 ± 3 и $17 \pm 1\%$, соответственно). Данные наблюдения важны для пациентов, по состоянию здоровья вынужденных длительно находиться в горизонтальном положении, а также для людей, страдающих атеросклерозом периферических сосудов [3].

Таким образом, интенсивная стимуляция проприоцепторов скелетных мышц, возникающая при гипергравитационной вибрационной физической нагрузке, обладает широким спектром положительных физиологических эффектов на организм старых и пожилых людей. Эти эффекты включают увеличение мышечной силы, улучшение координации движений и функции центральной нервной системы, приводят к восстановлению плотности костной ткани. Возникающая при этом стимуляция секреции анаболических гормонов обуславливает антивозрастной эффект. Активация локального кровотока способствует кислородному снабжению клеток организма, увеличению доставки к клеткам микро- и макронутриентов, что происходит на фоне повышения детоксикационной функции. Физиологические механизмы, опосредующие эффекты вибрационной физической нагрузки на организм старых и пожилых людей, до конца не ясны и требуют как фундаментальных, так и клинических исследований.

Литература

1. Назаров В. Т. Биомеханическая стимуляция: явь и надежды. Минск: Польша, 1986.
2. Bautmans I., van Hees E., Lemper J.-C., Mets T. The feasibility of whole body vibration in institutionalised elderly persons and its influence on muscle performance, balance and mobility: a randomised controlled trial // BMC Geriat. 2005. Vol. 5. № 17. P. 1–8.
3. Bleeker M., De Groot P., Rongen G. et al. Vascular adaptation to deconditioning and the effect of an exercise countermeasure: results of the Berlin Bed Rest study // J. appl. Physiol. 2005. Vol. 99. P. 1293–1300.
4. Boqaerts A., Delecluse C., Claessens A. Impact of whole-body vibration training versus fitness training on muscle strength and muscle mass in older men: a 1-year randomized controlled trial // J. Geront. A Biol. Sci. Med. Sci. 2007. Vol. 62. № 6. P. 630–635.
5. Bosco C., Colli R., Introni E. et al. Adaptive responses of human skeletal muscle to vibration exposure // Clin. Physiol. 1999. Vol. 19. P. 183–187.
6. Bosco C., Iacovelli M., Cardinale M. et al. Hormonal responses to whole body vibration in men // Europ. J. appl. Physiol. 2000. Vol. 81. P. 449–454.
7. Bruyere O., Wuidart M., Di Palma E. Whole body vibration to decrease fall risk and improve health-related quality of life of nursing home residents // Arch. Phys. Med. Rehabil. 2005. Vol. 86. № 2. P. 303–307.
8. Corrie H., Brooke-Wavell T., Mansfield T. A randomized controlled trial on the effects of whole body vibration on muscle power in older people at risk of falling // Osteoporos Int. 2007. Vol. 18 (Suppl 3). P. 285.
9. Falempin M., In-Albon S. Influence of brief daily tendon vibration on rat soleus muscle in non-weight-bearing situation // J. appl. Physiol. 1999. Vol. 87. P. 3–9.
10. Gosselink K., Roy R., Edgerton V. et al. Vibration-induced activation of muscle afferents modulates bioassayable growth hormone release // J. appl. Physiol. 2004. Vol. 96. P. 2097–2102.
11. Goto K., Takanatsu K. Hormone and lipolytic responses to whole body vibration in young men // Jap. J. Physiol. 2005. Vol. 55. P. 279–284.
12. Haas C. T., Turbanski S., Kessler K., Schmidtbleicher D. The effects of random whole-body-vibration on motor symptoms in Parkinson's disease // Neurorehabilitation. 2006. Vol. 21. № 1. P. 29–36.
13. Iwamoto J., Otaka Y., Kudo K. Efficacy of training program for ambulatory competence in elderly women // Keio J. Med. 2004. Vol. 53. № 2. P. 85–89.
14. Kawanabe K., Kawashima A., Sashimoto I. et al. Effect of whole-body vibration exercise and muscle strengthening, balance, and walking exercises on walking ability in the elderly // Keio J. Med. 2007. Vol. 56. № 1. P. 28–33.
15. Kerschman-Schindl K., Grampp S., Henk C. et al. Whole body vibration exercise leads to alterations in muscle blood volume // Clin. Physiol. 2001. Vol. 3. P. 377–382.
16. Kunemeyer J., Schmidtbleicher D. Die neuromuskuläre stimulation RNS // Leistungssport. 1997. Vol. 2. P. 39–42.
17. Maloney-Hinds C., Petrofsky J., Zimmerman G. The effect of 30 Hz vs. 50 Hz passive vibration and duration of vibration on skin blood flow in the arm // Med. Sci. Monit. 2008. Vol. 14. № 3. P. 112–116.
18. Rees S., Murphy A., Watsford M. Effects of whole body vibration on postural steadiness in an older population // J. Sci. Med. Sport. 2008. Vol. 327. P. 1–5.
19. Rittweger J., Beller G., Felsenberg D. Acute physiological effects of exhaustive whole body vibration exercise in man // Clin. Physiol. 2000. Vol. 20. P. 134–142.
20. Roelants M., Delecluse C., Verschueren S. Whole body vibration training increases knee-extension strength and speed of movement in older women // J. Amer. Geriat. Soc. 2004. Vol. 52. P. 901–908.
21. Rubin C., Recker R., Cullen D., Ryaby J. Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: a clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety // J. Bone Miner Res. 2004. Vol. 19. P. 343–351.
22. Runge M., Rehfeld G., Resnick E. Balance training and exercise in geriatric patients // J. Musculoskel Neuron Interact. 2000. Vol. 1. P. 61–65.
23. Russo C., Lauretani F., Bandinelli S. et al. High-frequency vibration training increases muscle power in postmenopausal

women // Arch. Phys. Med. Rehabil. 2003. Vol. 84. P. 1854–1857.

24. Schibl H., Ferretti J., Willnecker J. Noninvasive bone strength index as analysed by peripheral quantitative computed tomography // *Pediat. Osteology*. 1996. P. 147–160.

25. Torvinen S., Kannus P., Sievanen H. et al. Effect of 8-month vertical whole body vibration on bone, muscle perform-

ance and body balance: a randomized controlled study // *JBMR*. 2003. Vol. 18. P. 876–884.

26. Verschueren S., Roelants M., Delecluse C. et al. Effect of 6-month of whole body vibration training on hip density, muscle strength and postural control in postmenopausal women: a randomized control pilot study // *JBMR*. 2004. Vol. 19. P. 352–359.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 337–342

V. F. Pyatin¹, I. V. Shirolapov¹, O. L. Nikitin²

VIBRATION PHYSICAL EXERCISES AS THE REHABILITATION IN GERONTOLOGY

¹ Samara State Medical University, 18 ul. Gagarina, Samara 443079; ² Geriatric Centre, 165-B pr. K. Marksa, Samara 443079, Russia; e-mail: ishirolapov@mail.ru

Vibration biomechanical stimulation as the physiological basis of vibration physical exercises (whole body vibration) causes reflecting muscle contractions like tonic vibration reflex. This type of intervention leads to high intensive stimulation of proprioceptors as called muscle spindles which result in alteration in parameters of activity and developments of human physiological functions. This type of training has broad positive influence on organism. Acceleration physical exercises improve muscle performance, flexibility, nervous function, significantly increase bone mineral density, physiological secretion of anabolic hormones, growth and anti-aging factors; normalize/decrease cortisol as anti-stress effect and are beneficial for balance and mobility as well. It is showed acceleration training caused by vibration stimulus is beneficial for people suffering from osteoporosis and obesity, for rehabilitation of nervous and motor function in patients with Parkinson's disease, multiple sclerosis and stroke.

Key words: *whole body vibration, acceleration training, muscle spindles' stimulation*

О. Г. Фомина

ЗАНЯТИЯ ФИЗИЧЕСКИМИ УПРАЖНЕНИЯМИ В ВОДЕ С ЖЕНЩИНАМИ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА КАК СРЕДСТВО УЛУЧШЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ И КОРРЕКЦИИ ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физической культуры, 191040 Санкт-Петербург,
пр. Лиговский, 56, литер Е; e-mail: feb19fog@yandex.ru

Водной гимнастикой занимаются те, кому сложны обычные упражнения, например люди с заболеваниями суставов, сердечно-сосудистой и дыхательной систем, с избыточным весом, парализованные или просто неуклюжие. В воде эти люди чувствуют себя лучше, им требуется меньше усилий для выполнения упражнений и они получают хорошую физическую нагрузку за короткое время. Водная гимнастика безопасна для суставов и не дает перегрузку позвоночнику, тонизирует сосуды и улучшает обменные процессы, даже мышцы не болят после упражнений в воде. «Двигательная активность принадлежит к числу основных факторов, определяющих уровень обменных процессов организма и состояния его костной, мышечной и сердечно-сосудистой систем», — писал акад. В. В. Парин (1969).

Ключевые слова: физическая активность, специальные физические упражнения в воде, аквааэробика, избыточный вес, заболевания суставов, сердечно-сосудистой и дыхательной систем

Занятия физическими упражнениями в воде с женщинами пожилого возраста являются физиологичным и безопасным способом улучшения и сохранения здоровья, повышения работоспособности и продления трудоспособности.

Аквааэробика — это комплексная система физических тренировок в водной среде, где используют упражнения на развитие физических качеств и локальное воздействие на отдельные группы мышц. Для этого применяют специальные упражнения на растягивание и расслабление, дыхательные упражнения, гидромассаж, игры и элементы восточной гимнастики. Идея аквааэробики впервые была описана в манускриптах Древнего Китая. При обучении восточным единоборствам китайские монахи заставляли своих учеников отрабатывать резкость и точность ударов в воде. Современные спортсмены и педагоги решили использовать эту практику и перенести выполнение тренировочных упражнений в бассейн. Так появилась аквааэробика, которая завоевала популярность не только у профессионалов, но и у людей, далеких от спорта [10–12]. Плавание

является одним из эффективных средств укрепления здоровья и улучшения физического развития человека, начиная с первого месяца жизни и до старости. Сейчас становятся популярными занятия физическими упражнениями в воде при возрастных или медицинских противопоказаниях для занятий на суше, а также для умеющих или не умеющих плавать; это ходьба и бег, силовые упражнения, аквааэробика, растягивание и потягивание, акваденс, аквашейпинг, дыхательная гимнастика, массаж, гимнастика для суставов, ЛФК и другие [2, 4–6]. Водная среда и двигательная активность в ней способствуют активизации обменных процессов, совершенствованию систем терморегуляции, укреплению опорно-двигательного аппарата, улучшению деятельности кардиореспираторной, нервной и пищеварительной систем, повышению умственной и физической работоспособности, эмоциональной устойчивости, оказывают закаляющее воздействие. В настоящее время существуют работы, посвященные обоснованию необходимости оздоровительных занятий в воде и разным методикам их проведения [3, 7–9]. Однако, по нашему мнению, нет достаточно обоснованных работ, ориентированных на индивидуальные особенности и мотивацию к занятиям акваформингом. Поэтому разработка специальных программ занятий в воде — с учетом индивидуальных особенностей и исходного уровня физического состояния женщин пожилого возраста — является актуальной.

Целью данной работы является исследование и обоснование эффективности программ занятий физическими упражнениями в воде для улучшения общей работоспособности и коррекции телосложения. Для этого были поставлены задачи: определить исходный уровень физического состояния обследуемых женщин; организовать контрольную и основную группы; разработать программы занятий

в воде, используя специальный комплекс упражнений; определить эффективность использования исследовательских программ.

Материалы и методы

Методы исследования: анализ научно-методической литературы, обобщение опыта работы тренеров по плаванию и инструкторов аквааэробики, анкетирование, беседа, наблюдение, тестирование, педагогическое исследование, метод математической статистики.

Исследовательскую работу проводили на базе реабилитационного центра кафедры физических методов лечения и спортивной медицины СПбГМУ им. И.П. Павлова и в физкультурно-оздоровительном центре «Феникс» завода «Позитрон». В исследовании приняли участие 115 женщин пожилого возраста, занимающихся оздоровительными физическими упражнениями в воде и на суше. Все они были заняты умственным или легким физическим трудом и вели малоподвижный образ жизни.

Были проведены беседы и анкетирование, 60 человек протестированы по 30 показателям с использованием автоматизированной системы «Фактор» [4]. В ходе их обследования было установлено, что функциональное состояние позвоночника, дыхательной и сердечно-сосудистой систем, уровень двигательной подготовленности требуют коррекции. Результаты тестирования показали, что исходный уровень функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем удовлетворительный, а уровень мышечной и аэробной выносливости — низкий.

Разработана программа занятий в воде и на суше, которая предусматривает периодичность тренировок не менее 2–3 раз в неделю. Для женщин, занимающихся менее трех раз в неделю под руководством инструктора, был рекомендован комплекс упражнений для самостоятельных занятий и дневник самоконтроля.

Примерный комплекс для самостоятельных занятий

1. Исходное положение (и. п.) — основная стойка, пальцы рук в «замок», поворачивая ладони наружу, потянуться вперед, вернуться в и. п. То же, поднимая руки вверх.

2. И. п. — стоя, ноги на ширине плеч, сгибая руки в локтях, кисти к плечам, ладони наружу, соединить лопатки, прогнуться вперед, вдох. И. п. — выдох, руки вниз.

3. И. п. — стоя, одна рука вверх, ритмичная смена рук.

4. И. п. — основная стойка, полуприседания с разведением рук в стороны.

5. И. п. — стоя, руки перед грудью, ноги на ширине плеч. Поворот туловища вправо, руки в стороны — вдох, и. п. — выдох, то же в другую сторону.

6. И. п. — стоя, кисти к плечам. Руки вверх, ногу назад на носок, прогнуться — вдох. И. п. — выдох, то же с другой ноги.

7. И. п. — стоя, руки на пояс, одну ногу на носок. Смена положения ног.

8. Ходьба с высоким подниманием бедра, руки произвольно (опущены, на поясе или размахивая).

9. И. п. — лежа на спине, руки вдоль туловища, движение ногами «велосипед».

10. И. п. — то же. Диафрагмальное дыхание (вдох — живот поднять, выдох — опустить, при этом спину от пола не поднимать), расслабление.

Дневник самоконтроля

Количество занятий в неделю	Количество повторений (для каждого упражнения)	Продолжительность всего занятия	Интенсивность нагрузки (появление одышки и потоотделения), самочувствие
-----------------------------	--	---------------------------------	---

Программа специальных упражнений в воде, по которой проводили исследование, предусматривает средства, направленные на коррекцию осанки и массы тела, повышение уровня физической работоспособности, снижение психоэмоционального напряжения. Коррекция осанки и массы тела происходила с использованием специальных корригирующих упражнений локального воздействия, выполняемых в воде и на суше. Повышение уровня физической работоспособности достигалось с помощью упражнений аэробного характера определенной интенсивности и продолжительности. Снижение уровня психоэмоционального напряжения проводили с помощью специально подобранного музыкального сопровождения, мышечной релаксации, успокаивающего действия воды.

До проведения занятий в воде по специальной программе не было обнаружено достоверных различий в показателях морфофункционального состояния женщин в контрольной и основной группах (по 30 человек в каждой, табл. 1).

Результаты и обсуждение

После проведения 120 занятий в бассейне (продолжительностью 1 ч в течение 18 мес) на-

Характеристика обследуемых женщин до проведения исследования, $n=60$, $\bar{X} \pm \sigma$

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	p
Масса тела, кг	70,2±12,53	72,1±11,39	>0,05
ЧСС в покое, уд/мин	78,4±9,64	81,4±11,42	>0,05
Ортостатическая проба, уд/мин	90,9±9,07	93,0±8,21	>0,05
САД, мм рт. ст.	117,5±17,75	120,8±11,4	>0,05
ДАД, мм рт. ст.	75,7±12,61	80,1±7,61	>0,05
Окружность талии, см	80,5±10,96	83,1±11,26	>0,05
Окружность бедер, см	102,9±11,67	102,6±11,7	>0,05
Проба Штанге, с	50,5±16,91	49,9±11,49	>0,05

блюдались положительные изменения показателей морфофункционального состояния обеих групп. В контрольной группе женщины занимались классическим плаванием в течение 45 мин. В этой группе достоверно изменились показатели восстановления ЧСС, проба Штанге, аэробная выносливость, мышечная выносливость и уровень физической подготовленности (табл. 2). Занятия в основной группе проводили по специальной программе (рис. 1). Достоверно изменились показатели восстановления ЧСС (рис. 2), пробы Штанге (рис. 3), аэробной выносливости (рис. 4), мышечной выносливости (рис. 5), окружности бедер, уровня физической подготовленности, быстроты и координации движений (табл. 3). Остальные показатели также улучшились, однако различия их были недостоверны.

Полученные данные доказывают, что специальные упражнения в воде более результативны, по сравнению с обычным плаванием, для улучшения работоспособности и коррекции телосложения для женщин пожилого возраста.

Выводы

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования программы занятий физическими упражнениями в воде, которая позволила повысить физическую работоспособность и двигательную подготовленность, улучшить состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем, уменьшить массу тела. При проведении опроса большинство из занимающихся в группах женщин пожилого возраста отметили улучшение эмоциональной устойчивости, настроения, самочувствия. Данный этап исследовательской работы позволил уточнить содержание программы и внести соответствующие коррективы. Программу специальных упражнений в воде можно рекомен-

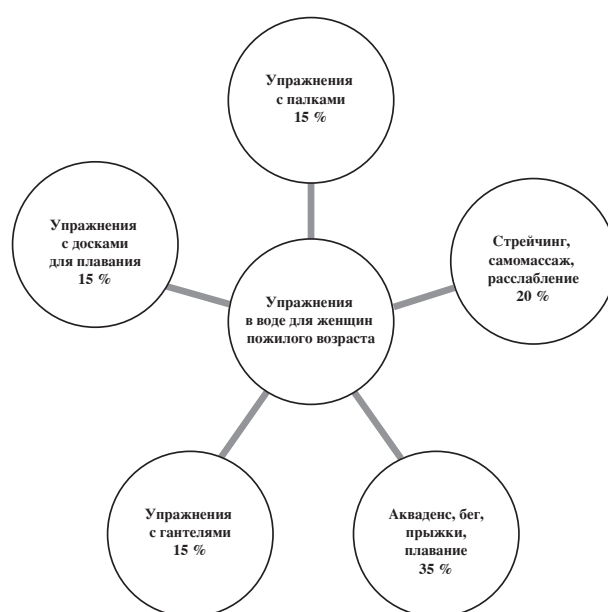


Рис. 1. Примерная схема занятий в воде по специальной программе

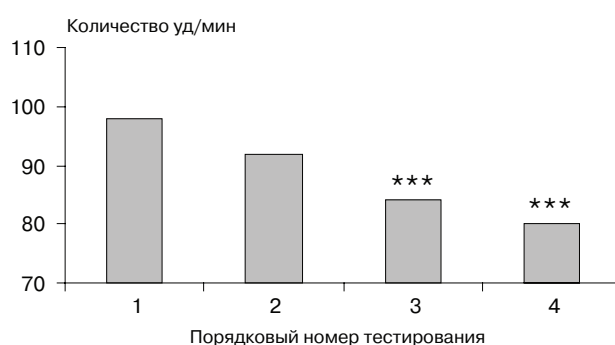


Рис. 2. Показатели восстановления ЧСС у женщин основной группы

Отличия от исходного уровня достоверны *** $p < 0,001$

Здесь и на рис. 3–5: 1 — перед началом занятий по программе (исходное состояние); 2 — после 30 занятий; 3 — после 80 занятий; 4 — после 120 занятий. Данные представлены в виде $\bar{X} \pm \sigma$

Показатели морфофункционального состояния и двигательной подготовленности контрольной группы после 120 занятий, n=30, X±σ

Показатель	До исследования	После исследования	Двусторонний t-критерий Стьюдента	p
Масса тела, кг	72,1±11,39	71,2±10,55	0,318	>0,05
ЧСС в покое, уд/мин	81,4±11,42	79,2±8,68	0,840	>0,05
Восстановление ЧСС, уд/мин	98,0±18,21	84,0±13,11*	3,417	≤0,05
САД, мм рт. ст.	120,8±11,39	120,8±8,49	0,000	>0,05
ДАД, мм рт. ст.	80,1±7,61	80,6±7,11	0,262	>0,05
Окружность талии, см	83,1±11,26	79,2±7,99	1,547	>0,05
Окружность бедер, см	102,6±11,72	100,2±2,32	1,100	>0,05
Проба Штанге, с	49,9±11,49	60,4±12,40*	3,402	≤0,05
Аэробная выносливость, усл. ед.	11,3±5,20	9,0±3,61*	1,990	≤0,05
Мышечная выносливость, раз	25,3±5,10	30,1±6,12*	3,300	≤0,05
Уровень физической подготовленности, усл. ед.	17,9±3,11	20,2±3,70*	2,606	≤0,05
Гибкость, см	8,5±5,3	9,3±7,1	0,495	>0,05
Быстрота, см	15,7±3,1	17,1±2,8	1,836	>0,05
Координация, с	24,9±10,3	25,8±11,2	0,324	>0,05

Отличия от исходных данных достоверны * p<0,05

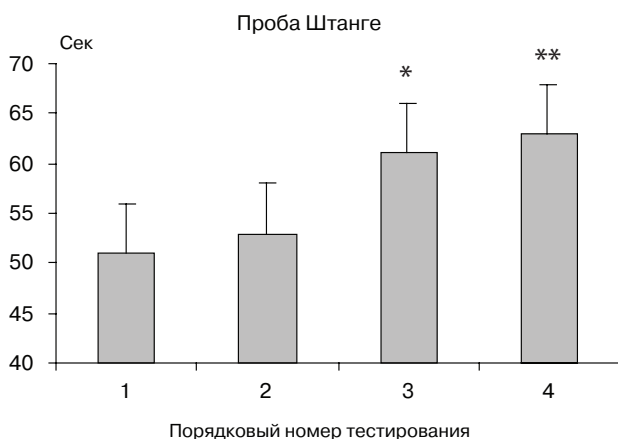


Рис. 3. Показатели пробы Штанге у женщин основной группы в зависимости от длительности участия в программе (тренированности)

Отличия от исходных данных достоверны *p<0,05; **p<0,01

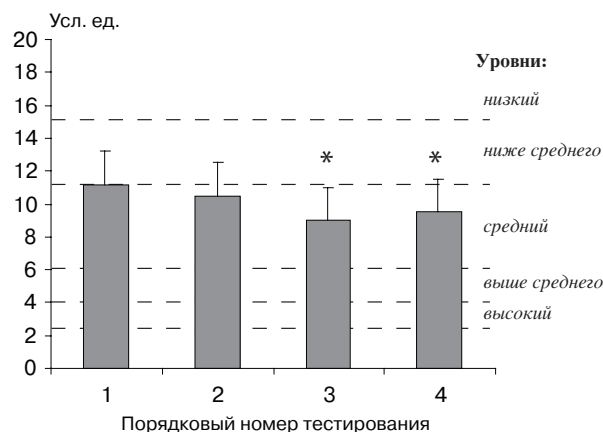


Рис. 4. Показатели аэробной выносливости у женщин основной группы

Отличия от исходного состояния достоверны * p<0,05

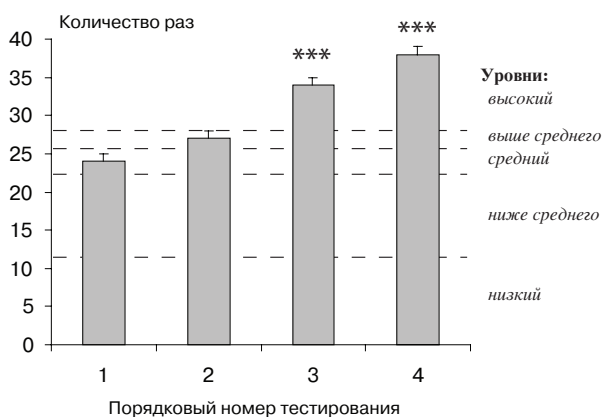


Рис. 5. Показатели мышечной выносливости у женщин основной группы

Отличия от исходного состояния достоверны *** p<0,001

Показатели морфофункционального состояния и двигательной подготовленности основной группы после 120 занятий, $n=30$, $\bar{X} \pm \delta$

Показатель	До исследования	После исследования	Двусторонний <i>t</i> -критерий Стьюдента	<i>p</i>
Масса тела, кг	70,2±12,53	67,3±10,11	1,468	>0,05
ЧСС в покое, уд/мин	78,4±9,64	76,0±4,93	1,756	>0,05
Восстановление ЧСС, уд/мин	97,9±19,07	78,8±6,25***	1,961	≤0,001
САД, мм рт. ст.	117,5±17,75	125,9±9,24	2,226	>0,05
ДАД, мм рт. ст.	75,7±12,61	74,7±5,48	3,600	>0,05
Окружность талии, см	80,5±10,96	76,5±10,54	1,119	>0,05
Окружность бедер, см	102,9±11,67	96,9±8,74*	1,999	≤0,05
Проба Штанге, с	50,5±16,91	62,8±13,15***	0,717	≤0,001
Аэробная выносливость, усл. ед.	11,3±4,30	9,1±1,71**	0,137	≤0,01
Мышечная выносливость, раз	24,5±5,00	37,6±4,81***	5,277	≤0,001
Уровень физической подготовленности, усл. ед.	17,7±2,90	21,9±1,70***	2,287	≤0,001
Гибкость, см	8,4±5,4	10,8±5,9	1,180	>0,05
Быстрота, см	16,5±3,2	18,5±1,9*	2,266	≤0,05
Координация, с	25,6±20,9	33,1±7,1*	3,015	≤0,05

Отличия от исходных данных достоверны: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p \leq 0,001$

довать для использования в бассейнах, аквапарках, городских и районных поликлиниках, которые оборудованы бассейнами и кабинетами ЛФК.

Литература

1. Гаврилов Д. Н., Комков А. Г. Технология тестирования при занятиях физическими упражнениями: Метод. реком. СПб.: Изд-во НИИФК, АРКУШ, 2003.
2. Гуськов С. И., Дегтярева Е. И. Новые виды физической активности женщин — влияние времени // Теор. и практ. физ. культуры. 1998. № 2. С. 52–62.
3. Железняк Ю. Д., Петров П. К. Основы научно-методической деятельности в физической культуре и спорте. М.: АCADEMIA, 2002.
4. Зубакова Е. И. Комплексное применение физических упражнений в воде и на суше для женщин: Автореф. дис. канд. пед. наук. СПб., 1997.
5. Каптелин А. Ф. Гидрокинезотерапия в ортопедии и травматологии. М.: Медицина, 1986.

6. Кардамонова Н. Н. Плавание: лечение и спорт. Ростов-на-Дону: Феникс, 2001.

7. Меньшуткина Т. Г. Плавание. Теория и методика оздоровительно-спортивных технологий базовых видов спорта. СПб.: ГАФК им. П. Ф. Лесгафта, 2002.

8. Медведев Н. В., Горшунова Н. К. Прогнозирование тяжести функциональных нарушений у больных пожилого возраста с сердечно-сосудистой патологией // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. № 2. С. 121–123.

9. Полухина Т. Г. Классификация и типология упражнений в аквааэробике как основа для разработки технологии обучения: Автореф. дис. канд. пед. наук. М., 2003.

10. Buchman D. D. The complete book of water healing. USA: Contemporary Books, 2002.

11. Masaru Emoto. Messages from water. 20th issue. HADO Kyoikusha Co., Ltd, 2005.

12. Sanders M. E. Selected physiological training adaptations during a water fitness program called wave aerobics. Thesis, University of Nevada, Reno, 1993.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 343–347

O. G. Fomina

ACTIVE EXERCISES IN WATER FOR ADVANCED AGE WOMEN AS THE WAY TO IMPROVE THEIR PHYSICAL WORKABILITY AND TO CORRECT BODY

St.Petersburg Research Institute for Physical Culture, 56 Liter E, Ligovsky pr., St.Petersburg 191040;
e-mail: feb19fog@yandex.ru

Water gymnastics is a suitable practice for those for whom ordinary exercising could be difficult, for example, people with joint problems, the paralysis, overweight or simply clumsy people. In water these people feel lighter, it takes less effort to exercise, and people get a good training load in a short time. Water gymnastics does not endanger joints or overload the spinal column, and even muscles will not hurt after exercising in water. In addition, water strengthens the body.

Key words: physical activity, water gymnastics, overweight, cardiology, illness of joint, problem with respiration

М. А. Савенко, Д. Н. Гаврилов, И. Н. Хохлов

ОСОБЕННОСТИ ДВИГАТЕЛЬНОГО РЕЖИМА ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Научно-исследовательский институт физической культуры, 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 2; e-mail: savenko@bk.ru

Увеличению периода активной жизни может способствовать широкое использование средств оздоровительной физической культуры. В то же время пожилые люди не охвачены организованными формами занятий. В настоящее время отсутствует концепция организации физкультурных занятий с людьми пожилого возраста. Важнейшим направлением рассматриваемой проблемы является нормирование физической нагрузки, ее оптимальной, предельно допустимой, индивидуальной величины, базирующейся не на календарном, а на биологическом возрасте.

Ключевые слова: активное долголетие, морфофункциональное состояние, педагогическое тестирование, формы организации занятий

В настоящее время важное социальное значение приобретает внедрение физической культуры в режим жизни людей пожилого возраста. Целенаправленное использование оздоровительных мероприятий позволит поддерживать долгие годы высокую физическую работоспособность.

Активное долголетие человека является основной проблемой современной геронтологии. Одним из важнейших вариантов ее решения считают регулярное выполнение физической работы, рационально спланированной по направленности и применяемым средствам [1, 3].

Для человека пожилого возраста физическая активность, организованная в виде направленных физических упражнений, — составная часть общего гигиенического режима. Она имеет такое же значение, как отдых и рациональное питание.

По данным многих авторов [2, 4–6], высокая двигательная активность замедляет старение.

В теории и практике физической культуры достаточно подробно разработан вопрос организации и проведения занятий с различными категориями населения — дошкольниками, школьниками, студентами и т. д. Исключение составляет старшая возрастная группа, в которой закономерности и особенности проведения занятий только обозначены.

Очевидно, что для определения эффективности использования программ занятий физической культурой необходимо, наряду с оценкой двигательной подготовленности занимающихся, оценивать функциональное состояние и уровень физического здоровья.

Материалы и методы

Были обследованы 154 человека, проживающие в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, в возрасте от 58 до 82 лет, из них 44 мужчины и 110 женщин.

В исследовании использовали традиционные методы: анкетирование, антропометрические измерения, тестирование, методы математической статистики.

Одновременно была разработана компьютерная система тестирования, оценки и выдачи рекомендаций. Система состоит из шести блоков и предназначена для оценки уровня морфофункциональных показателей, двигательной подготовленности, психоэмоционального напряжения, типа телосложения, биологического возраста, анализа показателей отдельных параметров и физического состояния людей пожилого возраста по 30 показателям. Система позволяет оценить исходный уровень физического состояния обследуемого и выдать индивидуальные рекомендации по режиму, кратности, интенсивности, продолжительности самостоятельных занятий.

Результаты и обсуждение

Программа занятий: теоретическая часть, комплексы суставной и дыхательной гимнастики, использование ритмопластики, средств закаливания и оздоровительного воздействия природных факторов, мышечной релаксации и традиционных

средств — ходьбы, бега, гимнастических упражнений, подвижных игр.

Теоретическая часть занятия включала мировоззренческие вопросы, вопросы гигиены и самоконтроля, психологии взаимоотношений, закаливания, рационального сбалансированного питания и др. Важнейшим направлением обсуждаемой проблемы является нормирование физической нагрузки, ее оптимальной, индивидуальной величины, базирующейся не на календарном, а на биологическом возрасте. Особенностью занятий является постоянный врачебный контроль и мониторинг состояния физического здоровья с использованием компьютерной системы «ФАКТОР».

В соответствии с уровнем физического состояния режим занятий может предусматривать интенсивность нагрузки по частоте сердечных сокращений в пределах 60–85 % от максимальной. Кратность занятий в недельном цикле — 5–7 раз, продолжительность одного занятия — от 20 мин до полутора часов.

Наиболее сложным является вопрос оптимального сочетания используемых средств оздоровительной физической тренировки. Предпочтение отдается упражнениям аэробной направленности, а также силовому характеру, и упражнениям на гибкость, дыхательной гимнастике.

Актуальной является проблема создания устойчивой мотивации к занятиям физическими упражнениями оздоровительной направленности и освоение специальных знаний по основам здорового образа жизни.

В качестве примера в *таблице* приведены сравнительные данные группы здоровья клуба «Кенга».

Исследования проводили в течение 6 лет. За это время произошли следующие изменения: средний показатель массы тела и жизненная емкость легких увеличились; нормализовалось артериальное давление; снизилась частота сердечных сокращений в покое, что свидетельствует об увеличении адаптационных возможностей. Показатели гибкости, координации и выносливости улучшились незначительно. Повысился уровень общей физической подготовленности. Биологический возраст практически не изменился.

Заключение

Проведенные исследования позволили изучить особенности морфофункционального состояния и уровень здоровья людей пожилого возраста. На основе полученных данных разработан алгоритм нормирования физической нагрузки на занятиях оздоровительной направленности по исходному уровню физического состояния. Это позволило обосновать рациональный двигательный режим занятий оздоровительной физической культурой для людей пожилого возраста, базирующийся на индивидуальных особенностях, состоянии здоровья, уровне физического состояния и биологическом возрасте. Данный двигательный режим предполагает систему контроля переносимости физической нагрузки, осуществляемого с помощью усовершенствованной компьютерной системы. Разработана и апробирована программа занятий оздоровительной физической культурой с людьми пожилого возраста.

В качестве действенной формы организации занятий предложено создание консультационно-

Сравнение показателей 1-го и 2-го обследований группы, $M \pm m$, $n=18$

Показатель	1-е обследование	2-е обследование	Изменение результата
Возраст, лет	54±3,6	60±7,1	6,0
Масса тела, кг	65±5,5	69±7,1	4,0
Жизненная емкость легких, мл	2540±595	2950±436	410
САД, мм рт. ст.	127,5 ±15,8	124,2±15,8	-3,3
ДАД, мм рт. ст.	83±7,9	73±3,9	-10
Частота сердечных сокращений в покое, уд/мин	71,3±5,9	68,4±2,8	-2,9
Гибкость, см	5,8±3,9	6,9±3,6	1,1
Координация, с	9±4,4	10,7±3,9	1,7
Аэробная выносливость, балл	3,2±0,4	3,7±0,4	0,5
Уровень физической подготовленности, балл	3,3±0,4	3,7±0,4	0,4
Биологический возраст, коэффициент	0,925±0,135	0,882±0,142	-0,043

методических центров. Эта форма организации занятий подтвердила свою эффективность.

Литература

1. Аулик И. В. Определение физической работоспособности в клинике и спорте. М.: Медицина, 1979. С. 30–32.
2. Зациорский В. М. Кибернетика, математика, спорт. М.: ФиС., 1985. С. 24–29.
3. Савенко М. А. Закономерности изменения физических качеств и психомоторных функций у женщин среднего

и пожилого возраста // Успехи геронтолог. 2008. Т. 21. № 3. С. 427–430.

4. Чеботарев Д. Ф. Геронтология и гериатрия. М.: Знание, 1989. С. 8–19.

5. Чеботарев Д. Ф., Коркушко О. В., Калиновская Е. Г. Влияние двигательного режима на некоторые функции организма пожилых, старых людей // В кн.: Двигательная активность и старение. Киев, 1969. С. 213–226.

6. Чеботарев Д. Ф., Коркушко О. В., Шатило В. Б., Соловей Л. М. Влияние длительного применения тканевых препаратов на показатели физической работоспособности и функционального возраста сердечно-сосудистой системы у людей с ускоренным типом старения // Пробл. старения и долголетия. 1998. № 2. С. 127–136.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 348–350

M. A. Savenko, D. N. Gavrilov, I. N. Khokhlov

MOVING REGIME PECULIARITIES OF SENIOR AGE PEOPLE

Saint-Petersburg Scientific Research Institute of Physical Culture, 2 pr. Dinamo, St.-Petersburg 197110; e-mail: savenko@bk.ru

Wide application of health-improving physical culture can contribute to active life prolongation. Senior people are usually not involved into organized occupations. There is no concept of organization for senior people physical lessons in our days. The most important direction of the considered problem is regulation of physical load. Its value should be optimal, maximum permissible, individual and based on the biological age but not on the calendar one.

Key words: *active longevity, morph functional state, pedagogic testing, organized forms of training*

Н. И. Чалисова², О. Е. Романов³, П. Ю. Морозова¹, Н. А. Балыкина¹, В. В. Лесняк¹,
Ю. А. Сухонос⁴, А. Н. Жекалов⁴

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ИЗ РОГОВ САЙГАКОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА НА ОРГАНОТИПИЧЕСКУЮ КУЛЬТУРУ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

¹ Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3; e-mail: ibgu@medport.ru; ² Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6; e-mail: ni_chalisova@mail.ru; ³ Калмыцкий государственный университет, Республика Калмыкия, 358000 Элиста, ул. Пушкина, 11; e-mail: romanov_oe@kalmsu.ru; ⁴ Военно-медицинская академия МО РФ, 194175 Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 37; e-mail: centhure@rol.ru

Исследовали влияние экстракта из рогов степной антилопы (сайгаков) разного возраста на органотипическую культуру лимфоидной ткани селезенки крыс. В разных фракциях экстракта определялось содержание от 4 до 10 аминокислот. При введении в культуральную среду фракций, полученных из экстрактов рогов молодых животных, в концентрации 1 нг/мл наблюдалась стимуляция клеточной пролиферации в эксплантатах селезенки и индекс площади увеличивался по сравнению с контрольными значениями, в то время как фракции, полученные из экстрактов рогов старых животных, не обладали таким действием и индекс площади эксплантатов оставался на уровне контроля. Видимо, экстракты рогов сайгаков обладают стимулирующими клеточную пролиферацию свойствами за счет содержания в них большого количества аминокислот, однако при старении животных это стимулирующее действие снижается.

Ключевые слова: органотипическая культура, аминокислоты, экстракт рогов сайгака, старение

Экстракты из пантов оленей, рогов носорога, буйвола, степной антилопы (сайгака) издавна используют в лечебной практике как противовоспалительные, жаропонижающие, анальгетические, гипотензивные, транквилизирующие средства [7, 10, 16]. Однако до сих пор нет подробных сведений о природе биологически активных веществ этих препаратов. Наибольшее число исследований посвящено пантокрину (экстракту из пантов оленей), причем установлено, что в гидролизате 100 г пантовой муки содержится, в среднем, 30–40 г аминокислот, а в пантокрине, полученном из 100 г пантов — до 0,4 г [7]. В белках пантов отмечается преобладание дикарбоновых аминокислот над диаминокислотами, высокое содержание суммы глицина, валина и аланина (около 30 %), высокий процент пролина (до 11 %). Такие аминокислоты, как глицин, пролин и глутаминовая кислота, составляют

в пантах 38 %, в пантокрине глицин, аланин, лейцин, пролин, глутаминовая кислота составляют 64 %, от общего содержания аминокислот в препарате. Для экстрактов из верхушек пантов характерно высокое содержание треонина, серина и фенилаланина. В процентном соотношении аминокислотный состав пантокрина близок к процентному содержанию аминокислот в плазме крови человека [7]. В исследованиях в культуре разных тканей показано, что аминокислоты могут оказывать влияние на основные клеточные процессы — пролиферацию и апоптоз, за счет чего модулируется функциональная активность тканей [1, 2, 12, 13].

В экспериментах на животных показано, что экстракт из рогов сайгака (*Saiga tatarica*) — сайтарин — оказывает выраженное гипотензивное действие не только в острых опытах на животных, но и при терапевтическом применении их на модели гипертонической болезни [10]. Экстракт оказывает противоязвенное действие, проявляет анальгетические и жаропонижающие свойства [7], повышает резистентность функциональных систем при кислородной недостаточности [10], повышает резистентность мембран эритроцитов крови [16]. Предварительные исследования состава сайтарина показали, что основу разных фракций экстракта составляют аминокислоты [5]. Становится необходимым выяснить сравнительную биологическую активность каждой из фракций сайтарина, содержащих разные аминокислоты.

Наиболее адекватным методом для быстрой количественной оценки направленности влияния исследуемых биологически активных веществ является органотипическое культивирование фрагментов тканей [4, 6, 11, 12, 19]. В наших недавних

работах [11, 13, 14] показано, что каждая из 20 кодируемых *L*-аминокислот оказывает в культуре лимфоидной ткани разное влияние на клеточные процессы, стимулируя либо пролиферацию, либо апоптоз, то есть модулирует функцию иммунокомпетентной ткани.

Целью настоящей работы было скрининговое исследование действия разных фракций из экстрактов рогов молодых и старых сайгаков на развитие органотипической культуры лимфоидной ткани селезенки половозрелых крыс.

Материалы и методы

Исследовали экстракты из рогов молодых (1,5–1,7 года) и старых (2–3,7 года) сайгаков. Рога приобретены по лицензии Управления по охране, контролю, регулированию и использованию охотничьих животных Республики Калмыкия в 2000 г.

Изучение фракций экстрактов производили с использованием современных методов высокоэффективной жидкостной хроматографии, УФ-спектроскопии, матричной лазерной десорбции и ионизации [10, 24]. Фракции получали путем перемалывания рогов сайгаков, трехкратной экстракцией порошка 50 % этиловым спиртом, осушением под вакуумом до получения порошка. Полученные экстракты фракционировали на колонке с сефадексом G-25 высотой 80 см и диаметром 1 см, элюировали 0,1 М раствор уксусной кислоты со скоростью 1 мл/мин, хроматограммы сканировали при длине волны 230 нм. Объем анализируемой пробы составлял 3 мл (70–90 мг). Элюент обезвоживали с помощью вакуумирования. Собранные фракции упаривались под вакуумом.

Исследования фракций экстрактов в культуре ткани выполнены на 800 эксплантатах селезенки половозрелых крыс линии Вистар. Методика культивирования подробно описана ранее [9, 11]. Отпрепарированную селезенку разделяли на фрагменты величиной около 1 мм³, которые помещали в чашки Петри с коллагеновым покрытием дна. Питательная среда состояла из 35 % среды Игла, 35 % раствора Хенкса, 25 % фетальной сыворотки быка и 5 % куриного эмбрионального экстракта. В среду добавляли глюкозу (0,6 %), инсулин (0,5 ед/мл), гентамицин (100 ед/мл). В чашки Петри с экспериментальными и контрольными эксплантатами добавляли по 3 мл питательной среды с исследуемой концентрацией аминокислоты; таким образом, эксплантаты экспериментальной

и контрольной групп развивались в одинаковых объемах питательной среды. Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37 °С и через 3 сут просматривали под фазово-контрастным микроскопом. Определяли индекс площади (ИП), который рассчитывали в условных единицах как соотношение площади всего эксплантата (вместе с зоной выселяющихся клеток) к площади центральной зоны эксплантата. Для визуализации эксплантатов применяли микротеленасадку для микроскопа (серия 10, МТН-13 «Альфа-Телеком», Россия). Для расчета ИП эксплантатов использовали программу PhotoM 1.2. Для каждого исследуемого вещества анализировали 20–25 экспериментальных эксплантатов и 20–23 — контрольных. Достоверность различий в ИП контрольных и экспериментальных эксплантатов оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Значения ИП выражали в процентах, его контрольное значение принимали за 100 %.

Результаты и обсуждение

При культивировании эксплантатов селезенки в первые сутки происходило распластывание эксплантатов на коллагеновой подложке и началось выселение пролиферирующих и мигрирующих клеток по периферии эксплантата, составляющих периферическую зону роста от края эксплантата. Именно в этой зоне при фазово-контрастной микроскопии производился морфометрический анализ ИП. Через 3 сут, если в эксперименте происходила стимуляция развития зоны роста, ИП экспериментальных эксплантатов увеличивался по сравнению с ИП контрольных эксплантатов. В случаях замедления или угнетения развития зоны роста ИП эксплантатов понижался по сравнению с контрольными значениями ИП. В развитии зоны роста культивируемых в органотипической культуре фрагментов тканей, как известно, играют роль пролиферационные и миграционные процессы в клеточных популяциях, а также адгезивные способности разных типов клеток. В данной работе учитывался суммарный эффект всех этих составляющих, выражающийся в размерах развивающейся зоны роста эксплантатов. Следует отметить, что выселение клеток не было равномерным по всей окружности эксплантата, а происходило только в местах прорыва капсулы, образующейся при культивировании фрагмента селезенки. Мигрирующие из эксплантатов клетки — лимфо-

Индекс площади (ИП) эксплантатов (%) при разных способах экстрагирования фракций

Возраст животного, лет	Экстракция фракции	ИП при концентрациях фракций		
		10 нг/мл	1 нг/мл	0,05 нг/мл
1,7	3 % уксусная кислота	-16±5	41±7*	3±2
1,7	3 %, NH ₄ OH	5±3	27±5*	27±5*
1,7	50 % спирт	-7±5	19±3*	6±3
3,7	50 % спирт	10±2	-2±1	9±4

* $p < 0,05$ по сравнению с индексом площади в контроле

бласты, лимфоциты — также чаще выявлялись в зонах капсулы, лишенных клеток мезотелия.

Контрольные значения ИП эксплантатов составляли $1,7 \pm 0,1$ условных единиц.

При исследовании в культуре ткани активности экстрактов из рогов молодых сайгаков выявлено, что стимулирующее действие оказывают фракции, полученные при использовании 3 % уксусного, спиртового и аммиачного экстрагирования (табл. 1), при концентрации экстракта 0,05–10 нг/мл. При этом ИП эксплантатов увеличивался на 41–27 % по сравнению с контрольными значениями ИП. При всех способах экстракции концентрация 1 нг/мл была эффективной. В то же время не наблюдалось активности экстрактов из рогов старых сайгаков (см. табл. 1), и значения ИП эксплантатов оставались на уровне контроля.

По данным хроматографического *N*-концевого анализа *DNS*-производных аминокислот, во всех исследованных фракциях после разделения на колонке с сефадексом G-25 содержатся свободные аминокислоты. Наибольшее количество аминокислот выявлено в 3-й, 6-й и 7-й фракциях, полученных разделением спиртового экстракта на

колонке с сефадексом G-25. Фракция 1 содержала 4 аминокислоты — глицин, глутаминовую кислоту, треонин, валин; фракция 3 содержала 7 аминокислот — глицин, треонин, валин, аланин, лейцин, изолейцин, пролин; фракция 4 содержала 4 аминокислоты — глицин, валин, лейцин, изолейцин; фракция 5 содержала 3 аминокислоты — глицин, лейцин, фенилаланин; фракция 6 содержала 9 аминокислот — глицин, глутаминовую кислоту, треонин, валин, аланин, лейцин, изолейцин, треонин, лизин, пролин; фракция 7 содержала 10 аминокислот — глицин, глутаминовую кислоту, треонин, валин, аланин, лейцин, изолейцин, треонин, лизин, пролин. Были исследованы в культуре лимфоидной ткани активности всех фракций, за исключением 2-й и 3-й, содержащих наименьшее количество аминокислот (2 и 3 аминокислоты, соответственно).

Было обнаружено, что все исследованные фракции из экстрактов рогов молодых сайгаков обладают выраженной статистически достоверной стимулирующей активностью в отношении клеточной пролиферации в эксплантатах селезенки (табл. 2). ИП при этом увеличивался на 15–37 %, по сравнению с контрольными значе-

Таблица 2

Индекс площади (ИП) эксплантатов (%) при введении в культуру лимфоидной ткани фракций экстракта молодых и старых животных (концентрация 1 нг/мл)

№ фракции	Фракции молодых животных (возраст, лет)	ИП эксплантатов	Фракции старых животных (возраст, лет)	ИП эксплантатов
7	1,5	16±3*	3,7	2±1
7	1,7	15±1*	3,6	-9±5
6	1,7	36±7*	3,6	5±3
5	1,6	21±3*	3,6	3±1
4	1,7	24±2*	2	7±5
3	1,7	20±3*	3	-2±1
2	1,7	37±6*	3,6	3±2
1	1,7	29±3*	3,7	2±1

* $p < 0,05$ по сравнению с индексом площади в контроле

ниями ИП. Особенно выраженной стимулирующей активностью обладали 1-я и 6-я фракции. Так, при введении в культуральную среду 6-й фракции экстракта в эффективной концентрации 1 нг/мл ИП увеличивался на $36 \pm 7\%$ ($n=20$, $p < 0,05$), по сравнению с контролем ($n=21$).

Таким образом, четко выявляется, что только экстракты из рогов молодых сайгаков оказывают стимулирующее действие в культуре лимфоидной ткани и усиливают клеточную пролиферацию в эксплантатах. Все фракции экстрактов из рогов старых сайгаков не оказывали никакого воздействия на развитие эксплантатов селезенки и значения ИП оставались на уровне контроля.

В наших предыдущих работах [11, 14, 15] результаты сравнительного иммуногистохимического исследования показали, что при увеличении зоны роста эксплантатов под влиянием пептидов и аминокислот в ней также увеличивались количественные плотности PCNA-позитивных ядер (N_{PCNA}) и интерфазных клеток, содержащих ядрышковые организаторы (N_{AgNOR}), что свидетельствует об усилении пролиферативных процессов. Одновременно снижался индекс апоптоза в результате увеличения количества клеток в состоянии апоптоза, выявляемых по методу Мозера [22]. Соответственно, при угнетении зоны роста эксплантатов одновременно увеличивался индекс апоптоза на 40–120 %. Все это отражает участие процессов пролиферации и апоптоза в развитии эксплантатов селезенки под влиянием биологически активных веществ. Можно полагать, что экстракты из рогов сайгаков обладают стимулирующими клеточную пролиферацию свойствами за счет содержания в них большого количества аминокислот. Действительно, содержащаяся в 1-й, 6-й и 7-й фракциях глутаминовая кислота, а также лизин в 7-й фракции, являются мощными стимуляторами клеточной пролиферации в лимфоидной ткани, как это было показано в ряде работ [11, 14, 15, 18]. Эти две аминокислоты с низкой гидрофобностью могут рассматриваться в качестве простейших регуляторов и стимуляторов физиологических функций. Как известно, из всех физико-химических свойств аминокислот именно гидрофобность их боковых групп очень важна для их межмолекулярных взаимодействий [3, 8, 17]. Механизмы действия данных аминокислот на клетки могут иметь универсальные черты, что согласуется с предположением об участии электростатических и гидрофобных взаимодействий в этих процессах.

Высокогидрофобные аминокислоты, обнаруженные в экстрактах из рогов сайгаков, — треонин, валин, аланин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, также участвуют в регуляции клеточного состава лимфоидной ткани, усиливая апоптоз, — процесс, являющийся непременным участником развития иммунокомпетентных клеток [20, 21, 23].

Выводы

Таким образом, впервые исследовано действие экстрактов из рогов сайгаков непосредственно на культуру лимфоидной ткани, содержащей иммунокомпетентные клетки. Явление стимуляции клеточной пролиферации и, следовательно, стимуляции функций иммунной системы при действии экстрактов из рогов сайгаков молодого возраста отчасти объясняет противовоспалительные, жаропонижающие, анальгетические, гипотензивные свойства лечебного препарата сайтарина, который может быть использован и в гериатрической практике. Выявлено резкое снижение биологической активности экстрактов из рогов старых животных, что подчеркивает изменение белкового и аминокислотного баланса при старении организма.

Литература

1. Белокрылов Г. А., Деревнина О. Н., Попова О. Я. Различия в иммунном ответе, фагоцитозе и детоксицирующих свойствах под влиянием пептидных и аминокислотных препаратов // Бюл. exper. биол. 1995. Т. 118. № 2. С. 509–512.
2. Замятнин А. А. Аминокислотный состав эндогенных физиологически активных олигопептидов // Докл. АН. 1987. Т. 292. № 5. С. 1261–1264.
3. Кузник Б. И., Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Цитомедины: 25-летний опыт экспериментальных и клинических исследований. СПб.: Наука, 1998.
4. Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем — цитомедины // Успехи соврем. биол. 1983. Т. 96. № 3. С. 339–346.
5. (Романов О. Е.) Romanov O. E. Amino acid analysis of «Saitarin» // The Caspian sea book 2. Elista. 2001. P. 144–145.
6. Рыжак Г. А., Войтон Е. В., Чалисова Н. И. Модулирующее действие пептидов на развитие эксплантатов кожи в органо-типической культуре // Успехи геронтол. 2007. Т. 20. № 1. С. 56–58.
7. Силаев А. Б., Галкин В. С., Филиппова Л. А. Химическая природа биологически активных веществ пантов // Пантовое оленеводство: сб. научных работ ЦНИЛ пантового оленеводства. Барнаул, 1975. С. 93–100.
8. Хавинсон В. Х. Итоги изучения и применения пептидных биорегуляторов в геронтологии: Тез. докл. междунаrodn. симпоз. «Геронтологические аспекты пептидной регуляции функций организма». СПб.: Наука, 1996. С. 84–85.
9. Хавинсон В. Х., Чалисова Н. И., Морозов В. Г., Малинин В. В. Роль пептидов тимуса в регуляции роста лимфоидной ткани у крыс разного возраста // Докл. АН. 1999. Т. 369. № 5. С. 701–703.

10. Цеденова Л. П., Романов О. Е. Мембранотропное действие экстракта из рогов сайгака // Хим.-фарм. журн. 1999. № 2. С. 10–11.

11. Чалисова Н. И., Быков Н. М., Зезюлин П. Н. Реципрокные соотношения пролиферативной активности в центральной и периферической зонах органотипической культуры селезенки при действии вилона у крыс разного возраста // Успехи геронтол. 2003. Т. 11. С. 104–108.

12. Чалисова Н. И., Пеннийнен В. А. Модулирующая роль незаменимых и заменимых аминокислот в органотипической культуре тканей у крыс разного возраста // Рос. физиол. журн. 2003. Т. 89. № 5. С. 591–597.

13. Чалисова Н. И., Пеннийнен В. А., Ноздрачев А. Д. Регулирующее действие аминокислот в органотипической культуре лимфоидных тканей с разной степенью зрелости // Докл. АН. 2003. Т. 389. № 2. С. 117–119.

14. Чалисова Н. И., Пеннийнен В. А., Хаазе Г. Регулирующая роль некоторых аминокислот при развитии апоптоза в культуре нервной и лимфоидной ткани // Рос. физиол. журн. 2002. Т. 88. № 5. С. 627–633.

15. Чалисова Н. И., Хавинсон В. Х., Пеннийнен В. А., Григорьев Е. И. Влияние полипептидных фракций тимуса на развитие органотипической культуры вилочковой железы и селезенки крысы // Цитология. 1999. Т. 41. № 10. С. 889–894.

16. Шаов М. Т., Файзиев Р. М., Шидов З. А., Романов О. Е. Биологически активные вещества природного происхожде-

ния в регуляции метаболизма в условиях гипоксии // Науч.-теоретич. журн. РАЕН «Фундаментальные исследования». М., 2002. С. 43–44.

17. Bachis A., Mochetti I. The chemokine receptor CXCR4 and not the N-methyl-D-aspartate receptor mediates gp120 neurotoxicity in cerebellar granule cells // J. Neurosci. Res. 2004. Vol. 75. № 1. P. 75–82.

18. Fu Y. M., Yu Z. X., Li Y. Q. Specific amino acid dependency regulates invasiveness and viability of androgen-independent prostate cancer cells // Nutr. cancer. 2003. Vol. 45. № 1. P. 60–73.

19. Levi-Montalchini R., Angeletty P. Nerve growth factor // Physiol. Rev. 1982. Vol. 48. P. 534–569.

20. Miller J. F. The role of the thymus in immunity — thirty years of progress // The Immunologist. 1993. Vol. 1. № 1. P. 9–15.

21. Morozov V. G., Khavinson V. Kh. Natural and synthetic thymic peptides as therapeutics for immune dysfunction // Int. J. Immunopharmacol. 1997. Vol. 19. № 9/10. P. 501–505.

22. Moser B. A silver stain for the detection of apoptosis at the light microscope // Micr. Anal. 1995. Vol. 37. P. 27–29.

23. Nat R., Voiculescu B., Stanciu C. et al. Apoptosis in human embryo development: 2. Cerebellum // J. Cell Mol. Med. 2001. Vol. 5. № 2. P. 179–187.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 351–355

N. I. Chalisova², O. E. Romanov³, P. Yu. Morozova¹, N. A. Balikina¹, V. V. Lesnyak¹,
Yu. A. Sukhonos⁴, A. N. Zhekalov⁴

THE MODULATING EFFECT OF THE HORN EXTRACT FROM THE SAIGA OF DIFFERENT AGE ON THE ORGANOTYPIC LYMPHOID TISSUE CULTURE

¹ St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, NWB of RAMS, 3 Dinamo pr., St. Petersburg 197110; e-mail: ibgu@medport.ru; ² I. P. Pavlov Institute of Physiology, RAS, 6 nab. Makarova, St. Petersburg 199034; e-mail: ni_chalisova@mail.ru; ³ Kalmikiya Republic, Kalmikiya State University, 11 ul. Pushkina, Elista 358000, Russia; e-mail: romanov_oe@kalmsu.ru; ⁴ Medical Military Academy, 37 ul. Lebedeva, St. Petersburg 194175; e-mail: centhure@rol.ru

The horn extracts from the saiga of different age were used to investigate its effect on organotypic tissue culture of explants from the rat spleen. From 4 to 10 amino acids were detected in the different extract fractions. The horn extracts from the young saiga, at the effective concentration 1 ng/ml, showed stimulating effect in spleen tissue cultures as compared to the control explants. No effect of extracts from the old saiga was observed in tissue culture. Possibly, a stimulation of the cellular proliferation is due to the great amino acid content in saiga horn; however this phenomenon is decreased by the aging.

Key words: organotypic culture, amino acids, saiga horn extract, aging

А. Л. Пирогов, Д. А. Альтман, Е. М. Ермак, Е. В. Давыдова

ПЛЕЙОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ МАЛЫХ ДОЗ СИМВАСТАТИНА У ПАЦИЕНТОВ СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С ПРОЯВЛЕНИЯМИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн, 454076 Челябинск, Мед. Городок, 8;
e-mail: doctor.pyrogov@mail.ru

В представленной работе отражены наблюдаемые плейотропные эффекты применения симвастати́на в суточной дозе 20 мг у лиц старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью. Показана практическая возможность улучшения функции сосудистого эндотелия, уменьшения риска острых сосудистых событий в течение 12 мес наблюдения и относительная безопасность применения препарата в указанной дозировке.

Ключевые слова: старческий возраст, симвастатин, плейотропные эффекты, эндотелийзависимая вазодилатация, хроническая сердечная недостаточность

В настоящий момент клинически убедительно обоснована эффективность гиполипидемической терапии [1] с использованием средних и высоких доз симвастати́на у пациентов с атерогенным профилем липидов крови. Однако вопрос о возможности и необходимости применения статинов, их дозировки у лиц старших возрастных групп при относительно невысоком уровне гиперлипидемии и при проявлениях хронической сердечной недостаточности остается открытым.

Цель исследования — оценить плейотропные эффекты длительного приема малых доз симвастати́на и целесообразность их использования у пациентов старческого возраста с проявлениями хронической сердечной недостаточности.

Выбор симвастати́на в дозировке 20 мг/сут в нашем исследовании был предопределен наибольшей изученностью данного препарата среди ингибиторов ГМК-КоА-редуктазы; наличием литературных данных, указывающих на возможное отсутствие жесткой зависимости между проявлением плейотропного и гиполипидемического эффектов именно симвастати́на [10, 14, 21].

Материалы и методы

С 2004 г. на базе Челябинского областного клинического терапевтического госпиталя для ве-

теранов войн было начато клинико-лабораторное исследование, в которое были включены 212 больных старческого возраста (75 лет и старше) с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II–III ФК в соответствии с классификацией ОССН [4]. Причинами развития ХСН являлись: ишемическая болезнь сердца (ИБС), артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД) или их сочетание. Функциональный класс стенокардии напряжения определяли по классификации Канадского общества кардиологов (1976). От всех больных получено письменное согласие на участие в исследовании. Обследование и контроль выполняли в условиях стационарного отделения. Из исследования исключены пациенты с онкопатологией в анамнезе до 5 лет, деменцией, декомпенсированными сопутствующими заболеваниями (более II стадии), острыми сосудистыми событиями в период до 3 мес от начала исследования, низкой массой тела (индекс массы тела (ИМТ) больше 19), выявлением критериев исключения в процессе наблюдения за больными или отказом от участия в исследовании в период его проведения. Все больные были разделены в зависимости от получаемого лечения на две равные группы с единственной оговоркой: в группу приема статинов не включали пациентов с уровнем общего холестерина менее 3,5 ммоль/л из этических соображений [13, 18] в связи с возможным ухудшением течения основного заболевания. Опытной группе больных, помимо лечения препаратами, рекомендованными для лечения ХСН [2] (блокаторы АПФ, селективные β-блокаторы, мочегонные тиазидового ряда, антагонисты альдостерона), назначали симвастатин в дозе 20 мг/сут. Из препаратов группы симвастати́на были использованы лекарственные формы, разрешенные к применению на территории РФ. Контрольная группа больных получила терапию, рекомендованную для

лечения больных ХСН. Клинические, лабораторные и инструментальные анализы проводили всем больным перед началом исследования и через 3, 12 мес. Конечными точками исследования считали рубеж 12-месячного наблюдения, развитие любого острого сосудистого события или ненасильственная смерть.

Эндотелийзависимую вазодилатацию плечевой артерии выполняли на ультразвуковом аппарате «Logic 7» (компания Джанерел Электрикс, США) в соответствии с методикой, предложенной D. S. Celermajer [12]. На этом же аппарате оценивали толщину комплекса «интима—медиа» [16]. Врачи-исследователи не были информированы о принадлежности больного к той или иной группе. Липидный спектр, уровень С-реактивного белка (СРБ), креатинина определяли на аппарате «Daytona» (Соединенное Королевство). Средний объем эритроцитов *MCV* определяли автоматически на аппарате «Медоник СА 530». Уровень фактора некроза опухоли *TNF-α* определяли иммуноферментным методом из стандартного набора на аппарате «Multyscan plus» (Финляндия), результат выражали в пкг/мл. Уровень *NO* плазмы определяли по конечным стабильным метаболитам оксида азота [3, 5]. Способность культивированных моноцитов [11] продуцировать *NO* спонтанно и после стимуляции определяли в динамике в обеих группах. Статистическая обработка результатов выполнена на компьютере с использованием программного пакета «Statistica 6.0» (Statsoft. Inc., 2001). Для оценки относительного риска наступления исходов использована регрессионная модель Кокса. Анализ достоверности различий параметров проводили путем определения коэффициента Фридмана. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Данные приведены как $M \pm m$.

Результаты и обсуждение

За период наблюдения из 212 пациентов, включенных в исследование, были 17 больных (из контрольной группы — 3, из опытной — 14, из них 11 — в связи с отменой симвастатина). Причины исключения из исследования следующие: насильственная смерть, переезд в другой город, обнаружение онкопатологии (по два случая в каждой группе), в опытной группе — появление побочных эффектов. Среди причин, послуживших причиной отмены симвастатина, были следующие: трехкратное увеличение уровня общей креатинфосфокиназы без клиники миопатии (1 случай), аллергическая реакция в виде дерматита и ухудшения течения бронхиальной астмы (2), боли в животе (2), слабость и головокружение (4), боли в мышцах (2). Результаты обобщены у 100 больных контрольной группы и 95 больных опытной группы. Основные характеристики сравниваемых групп больных отражены в табл. 1.

Как видно из представленной таблицы, обе группы были в целом сопоставимы, исключая встречаемость постинфарктного кардиосклероза, которая в опытной группе была достоверно выше. Лечение больные получали в соответствии с основным заболеванием. Частота использования препаратов представлена на рис. 1.

В соответствии с представленными данными, достоверные различия при назначении лекарственных препаратов по поводу ХСН отмечали лишь по группе сердечных гликозидов. Данное отличие связано с несколько большей встречаемостью в контрольной группе больных с ХОБЛ (недостоверно) и отсутствием возможности лечения больных лишь β -блокаторами. Среди показаний к назначению небольшой дозы сердечных гликозидов было наличие тахисистолической формы мерцательной аритмии с невозможностью уредить ритм желудочков небольшой дозой β -блокаторов, склонность к гипотонии (по одному случаю в каждой группе), сниженная фракция выброса левого желудочка,

Таблица 1

Сравнительная клиническая характеристика обеих групп больных

Группа	Число больных		Средний возраст, годы	ИМТ	Функциональный класс ХСН		Сопутствующая патология				
	м	ж			II	III	АГ	МА	ПИК	СД	ХОБЛ
Опытная	72	23	80,6±0,3	27,9±0,4	29	66	84	32	48, $p < 0,05$	17	25
Контрольная	66	34	81,1±0,3	27,0±0,4	33	67	86	44	37	14	34

Примечание. МА — мерцательная аритмия (хроническая форма фибрилляции предсердий), ПИК — постинфарктный кардиосклероз, СД — сахарный диабет, ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких

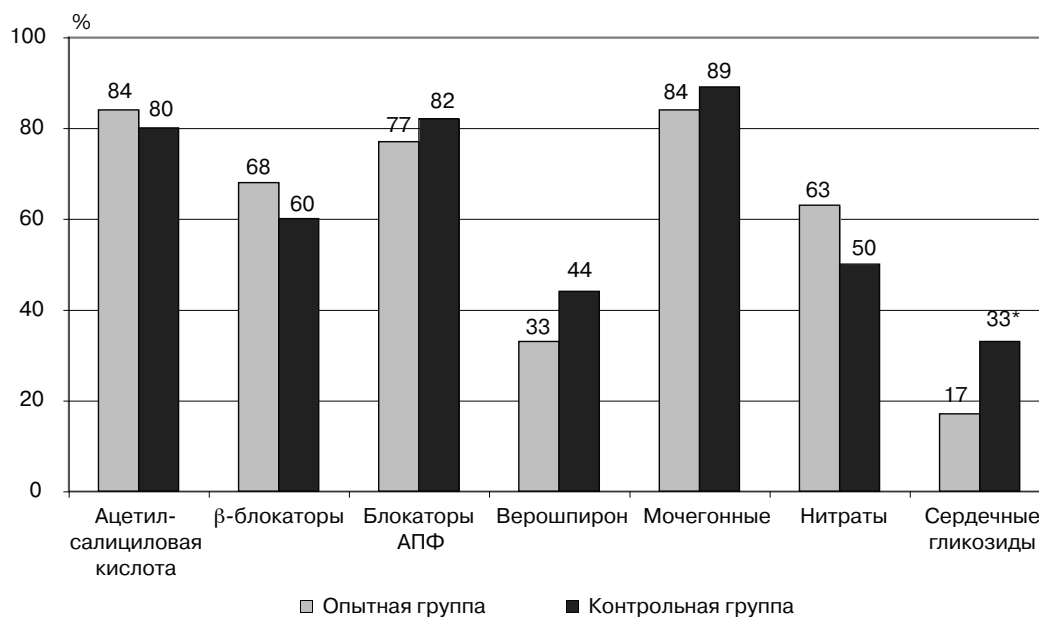


Рис. 1. Частота назначения препаратов в сравниваемых группах больных

β-блокаторы (бисопролол в средней дозе 5 мг/сут), блокаторы АПФ (эналаприл в дозе 5–20 мг/сут), сердечные гликозиды (дигоксин в дозе 0,125–0,25 мг/сут), блокаторы альдостерона (верошпирон в поддерживающей дозе 25 мг/сут), мочегонные (гипотиазид в дозе 12,5–25 мг/сут), ацетилсалициловая кислота в дозе 125 мг/сут, нитраты (изосорбида моно- и ди-нитраты в дозе 20–40 мг/сут)

* $p < 0,05$

бронхообструкция. Частота назначения других лекарственных препаратов в группах была примерно одинаковой. Гиполипидемический эффект применения симвастатина оценивали по динамике липидного спектра сыворотки крови, отраженной в табл. 2.

Из табл. 2 следует, что применение фиксированной дозы симвастатина позволило нормализовать липидный спектр у обследуемых больных: через 3 и 12 мес произошло достоверное снижение атерогенных фракций липидного спектра по отношению к исходному уровню (ОХС, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ, КА).

Конечные результаты представлены в виде кривых количества больных в опытной и контрольной группах (рис. 2), а диагнозы в конечной точке исследования приведены в табл. 3. Анализ развития конечных точек показывает тенденцию к расхождению кривых уже после одного месяца применения симвастатина в дозе 20 мг/сут. Этот эффект выявляется практически в течение всего периода наблюдения и достигает степени достоверности к концу наблюдения (через 12 мес от начала приема препарата).

Как видно из табл. 3, большинство случаев развития конечных точек связано с развитием острой

Таблица 2

Динамика липидного спектра в обеих группах больных

Показатель	Опытная группа				Контрольная группа			
	исходный	через 3 мес	через 12 мес	<i>p</i>	исходный	через 3 мес	через 12 мес	<i>p</i>
ОХС	5,74±0,15	4,48*±0,11	4,64*±0,12	<0,001	4,97±0,13	5,04±0,14	5,11±0,13	>0,05
ЛПНП	3,87±0,13	2,69*±0,1	2,88*±0,11	<0,001	3,12±0,1	3,26±0,11	3,35±0,11	>0,05
ЛПОНП	0,71±0,05	0,59*±0,03	0,64*±0,03	<0,05	0,6±0,04	0,59±0,04	0,6±0,03	>0,05
ЛПВП	0,13±0,03	0,19±0,04	0,12±0,04	>0,05	1,23±0,03	1,18±0,04	1,17±0,04	>0,05
ТГ	1,58±0,12	1,31*±0,08	1,42±0,07	<0,05	1,36±0,1	1,3±0,08	1,33±0,07	>0,05
КА	4,27±0,16	2,94*±0,13	3,52*±0,14	<0,001	3,15±0,12	3,41±0,15	3,58**±0,14	0,056

* Достоверность различий по отношению к исходным показателям

** Тенденция к появлению достоверности результатов

Примечание. ОХС — общий холестерин, ЛПНП — липопротеиды низкой плотности, ЛПОНП — липопротеиды очень низкой плотности, ЛПВП — липопротеиды высокой плотности, ТГ — триглицериды, КА — коэффициент атерогенности

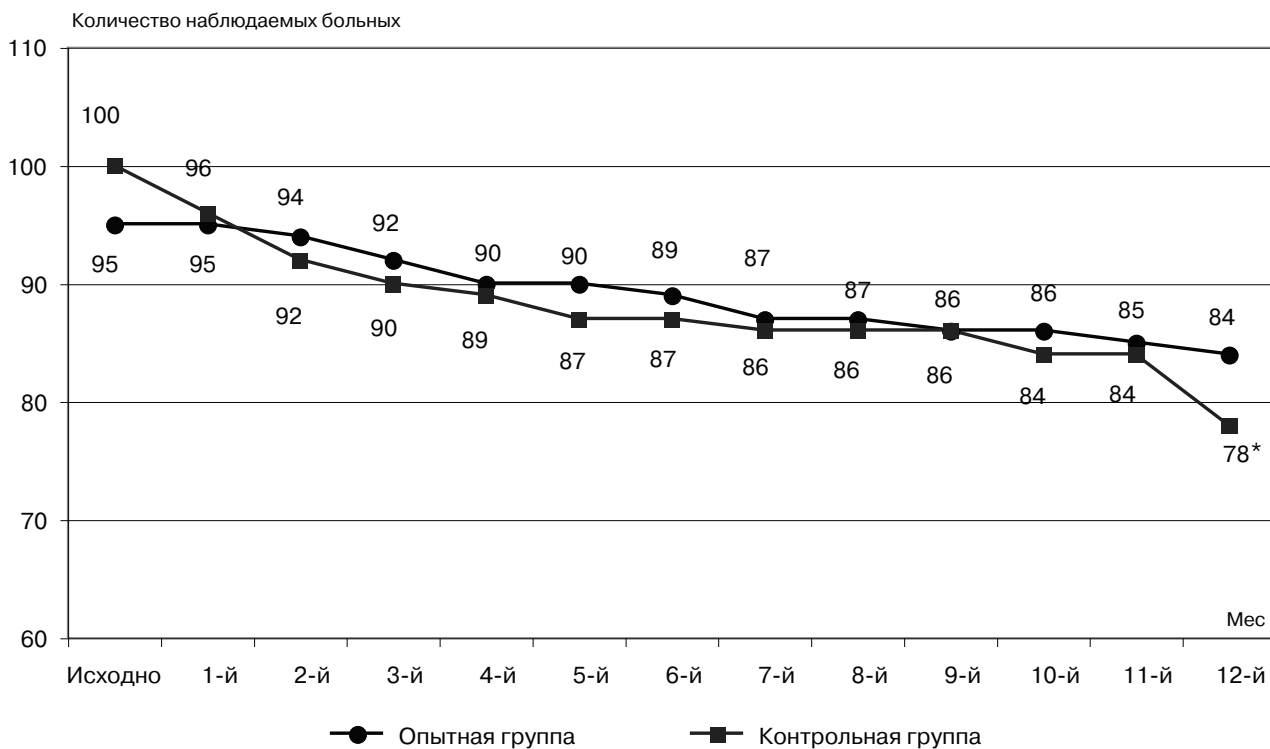


Рис. 2. Динамика количества больных в течение 12 мес наблюдения
* $p < 0,05$

артериальной сосудистой патологии. Далее нами была проведена клиническая оценка динамики среднего класса стенокардии в изучаемых группах. Полученные результаты отражены на рис. 3.

Из рис. 3 следует, что в контрольной группе в динамике годичного наблюдения пациентов старческого возраста происходило нарастание ФК стенокардии напряжения, а в опытной группе произошло достоверное снижение среднего ФК стенокардии через 3 и 12 мес наблюдения. Часть пациентов опытной группы отказались от приема нитратов пролонгированного и короткого действия или уменьшили принимаемую дозу этих препаратов.

Достаточно интересные результаты получены при анализе динамики уровня креатинина сыворотки крови в обеих группах, так как одной из наи-

более частых причин нарушения функции почек у пациентов старческого возраста является атеросклеротическое поражение сосудистого русла почек и нарушение микроциркуляции в клубочках. Был проведен анализ больных с повышенным уровнем креатинина от 100 до 140 мкмоль/л (пациенты с уровнем креатинина выше 140 мкмоль/л участия в исследовании не принимали). Результаты отражены в табл. 4.

Результаты, приведенные в табл. 4, показывают, что в опытной группе произошло достоверное улучшение выделительной функции почек, в контрольной группе не было существенного изменения повышенного уровня креатинина.

У всех больных оценивали способность сосудов к эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД).

Таблица 3

Диагнозы в конечной точке исследования

Группа	ПС	ОИМ	ОНМК	ВС	РАо	ТЭЛА	ТМА	Всего
опытная	2	2	2 (2*)	4 (4)	0	1 (1)	0	11 (7)
контрольная	7	5 (2)	4 (2)	3 (3)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	22 (10)

Примечание. ПС — прогрессирующая стенокардия, ОИМ — острый инфаркт миокарда, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ВС — внезапная смерть в присутствии свидетелей, РАо — разрыв брюшного отдела аорты, ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии, ТМА — тромбоз мезентериальных артерий. В скобках указано число летальных исходов. * Отмечен случай, когда у одного больного развился летальный исход после приступа эпилепсии (без доказательств отсутствия ОНМК как причины очередного приступа эпилепсии)

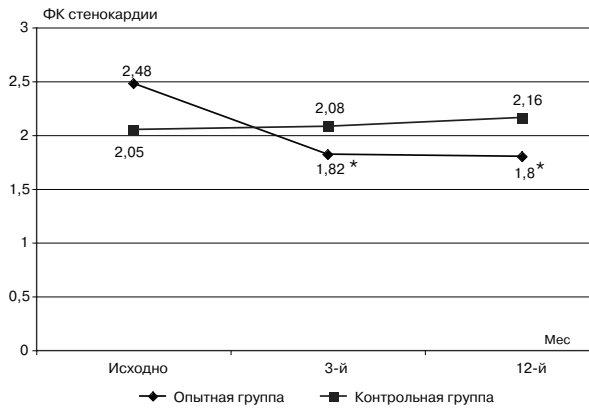


Рис. 3. Динамика изменения функционального класса (ФК) стенокардии в исследуемых группах
* $p < 0,05$

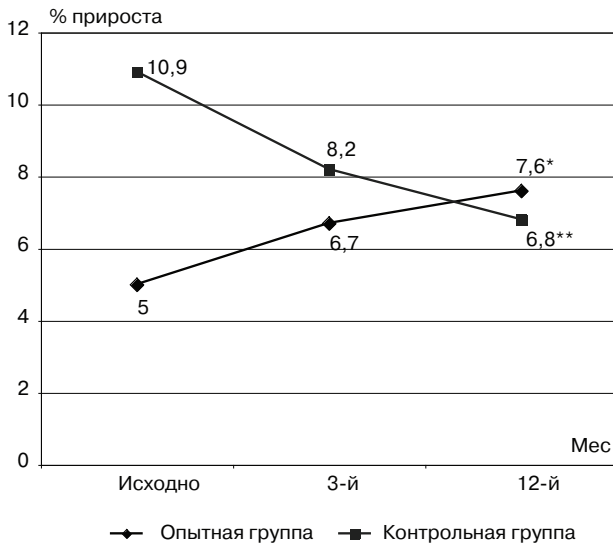


Рис. 4. Динамика эндотелийзависимой вазодилатации в исследуемых группах
* $p < 0,05$, ** $p = 0,057$

Динамика полученных результатов представлена на рис. 4.

Как следует из рис. 4, изначально показатели ЭЗВД достоверно различались в пользу больных контрольной группы. Представленные графики наглядно демонстрируют тенденцию ухудшения ЭЗВД в контрольной группе за период 12-месячного наблюдения и достоверное улучшение этого показателя в опытной группе. Клинически этот эф-

фект можно было наблюдать уже через 1–3 мес: часть больных со стенокардией напряжения уменьшила дозу или отказалась от приема пролонгированных нитратов, у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей увеличивалась дистанция прохождения привычного участка пути без остановки или уменьшалась частота и интенсивность ночных судорог в икроножных мышцах. При рассмотрении динамики толщины комплекса «интима–медиа» (ТИМ) правой и левой сонных артерий были получены результаты, представленные в табл. 5.

В представленной таблице изначально показатели ТИМ в обеих группах существенно не различались и были выше нормы, что косвенно свидетельствует о значительном развитии атеросклеротического процесса. При контроле показателя ТИМ в динамике получена приостановка процесса увеличения размеров ТИМ в опытной группе при достоверном росте этого показателя в контрольной группе — примерно симметрично по обоим сонным артериям.

Также была оценена динамика (появление, рост, регрессия) атеросклеротических бляшек в месте бифуркации правой и левой сонных артерий. Для удобства расчетов, изменения в правой и левой сонных артериях у каждого пациента рассматривали как отдельный случай. Динамика появления бляшек отражена в табл. 6. Данные приведены как процент от общего количества случаев в исследуемой группе.

Исходно исследуемые группы по числу регистрируемых бляшек практически не различались. В дальнейшем произошло достоверное нарастание числа пораженных сосудов в сравнении с исходными данными в обеих группах, достоверных различий между группами не обнаружено. Не было обнаружено достоверных различий между группами и при оценке средней длины атеросклеротических бляшек в сонных артериях.

При анализе механизмов изменения ЭЗВД определяли способность одного из клеточных компонентов крови — моноцитов — к спонтанной и стимулированной продукции NO, так как моно-

Таблица 4

Динамика уровня креатинина у пациентов обеих групп

Группа	Исходный	Через 3 мес	Через 12 мес	<i>p</i>
опытная	118,5±2,8	109,8±2,6	104,3*±2,2	<0,05
контрольная	117,4±3,1	125,0±8,8	107,9±4,8	>0,05

* Здесь и в табл. 5, 6: достоверность различий с исходными данными

Таблица 5

Динамика ТИМ в исследуемых группах больных

Группа	Правая общая сонная артерия			p	Левая общая сонная артерия			p
	исходно	через 3 мес	через 12 мес		исходно	через 3 мес	через 12 мес	
опытная	1,3±0,06	1,3±0,04	1,3±0,03	–	1,3±0,06	1,3±0,05	1,3±0,03	–
контрольная	1,2±0,04	1,3±0,04	1,4*±0,05	<0,01	1,2±0,04	1,2±0,04	1,4*±0,05	<0,001

Таблица 6

Динамика появления атеросклеротических бляшек в сонных артериях у пациентов обеих групп, %

Показатель	Основная группа			p	Контрольная группа			p
	исходно	через 3 мес	через 12 мес		исходно	через 3 мес	через 12 мес	
Есть бляшка	31,5	46,8*	47,6*	<0,05	29,7	46,7*	52,4*	<0,001
Нет бляшки	68,5	53,2	52,4	–	70,3	53,3	47,6	–

циты, макрофаги и эндотелиоциты обладают способностью к индуцированной продукции *NO* через активацию синтетазы (*eNOS*) [15]. Определение же плазменных показателей *NO* на фоне приема пролонгированных нитратов не является информативным. У обследуемых больных были выделены и культивированы моноциты в соответствии с методикой [11], после чего была определена их способность продуцировать *NO* спонтанно и после стимуляции компонентами, содержащими липиды [3, 5]. Полученные данные представлены в табл. 7.

По результатам выполненной пробы, уровень спонтанной выработки *NO* в обеих группах в динамике наблюдения достоверно не менялся. В опытной группе индуцированная продукция *NO* достоверно увеличилась через 3 мес комбинированного лечения со статинами, эта тенденция сохранялась вплоть до конца наблюдения.

Исходя из возможности статинов влиять на агрегационные способности тромбоцитов [19], оценены действия длительного приема симвастатина в дозе 20 мг/сут на объем эритроцитов (*MCV*) и плазменное звено свертывающей системы крови. Изначально различия по размерам эритроцитов между группами были недостоверны ($p=0,06$). Уже через 3 мес зафиксировано достоверное сни-

жение объема эритроцитов в опытной группе, снижение стойко удерживалось и к окончанию периода наблюдения. Данный эффект при применении статинов описан в литературе и подтверждается настоящим исследованием [17]. Исходная коагулограмма у обследованных больных характеризовалась признаками гиперкоагуляции и нарушения функции фибринолиза, что совпадает с данными литературы [7]. В опытной группе отмечено более значительное и достоверное снижение Хагеман-зависимого фибринолиза и уровня фибриногена, чем в контрольной группе. Несомненно, важен тот факт, что фактор Хагемана вырабатывается эндотелием сосудов [6], что косвенно еще раз подтверждает позитивное влияние используемой фиксированной дозы симвастатина на функцию сосудистого эндотелия. Что же касается уровня фибриногена, то этот показатель отражает, скорее, процессы воспаления, и его динамика созвучна изменению уровня СРБ в наблюдаемых группах. В контрольной группе уровни СРБ достоверно не менялись в течение всего периода наблюдения, а в опытной группе произошло более чем двукратное снижение его уровня, что достоверно с высокой степенью ($p=0,0001$) и отражает противовоспалительный эффект принимаемого препарата [8, 9].

Таблица 7

Способность моноцитов вырабатывать *NO*

Группа	Спонтанная продукция <i>NO</i>			Стимулированная продукция <i>NO</i>		
	исходная	через 3 мес	через 12 мес	исходная	через 3 мес	через 12 мес
опытная	56±6,9	64,3±8,7	46,5±8,1	73,2±6,3	91,2*±9,0	85,5±5,6
контрольная	58,7±8,0	87,5±20,1	37,6±10,1	89±14,3	61,3±8,8	68±10,9

* $p=0,05$

Выводы

Выполненное исследование является одной из немногих работ, отражающих эффекты длительного приема малых доз симвастатина у больных старческого возраста с проявлениями ХСН. В результате приема симвастатина в фиксированной дозе 20 мг/сут в составе комплексной терапии в опытной группе больных удалось к концу наблюдения (12 мес) достоверно снизить уровень общего холестерина и его атерогенных фракций, что сопровождалось существенным уменьшением числа острых сосудистых событий, снижением класса стенокардии, в сопоставлении с контрольной группой, не получавшей симвастатин. Отмечено улучшение функции сосудистого эндотелия, снижение в крови уровня маркеров воспаления (СРБ, фибриноген), улучшение реологических свойств крови. Следует отметить, что применение симвастатина в вышеуказанной дозе лишь у одного больного сопровождалось превышением уровня АСТ, АЛТ в 1,5 раза от нормы, не потребовавшее отмены препарата, а использование препарата у больных с умеренным нарушением азотовыделительной функции почек не только не ухудшило эту функцию, но и позволило достоверно снизить уровень креатинина у пациентов. Вместе с тем, 10 % больных отказались от дальнейшего приема препарата из-за побочных эффектов либо выявления начальных признаков возможного развития рабдомиолиза.

Необходимость жесткого клинико-лабораторного контроля пациентов в этом возрасте приобретает особо важное значение и требует много сил и терпения от врача. В одном из проведенных ранее исследований показано, что при назначении разных гиполипидемических препаратов и отсутствии жесткого контроля со стороны врачей в течение одного года до 60 % пациентов прекращают прием этого препарата, а половина из них — в течение первых 3 мес [20]. Сложно убедить больного принимать лекарство, если он не ощущает быстрого улучшения. Вместе с тем, полученный результат может превзойти все ожидания. При этом клинический эффект может проявляться на самых разных уровнях и в разных функциональных системах. Например, у одного из наблюдаемых пациентов нормализовалась работа кишечника, хотя до назначения симвастатина больной страдал констипацией (вероятно, у больного был ишемический колит); отмечены случаи уменьшения головокружения и улучшения слуха, что, вероятно, обусловлено улучшением кровотока бассейнов головного мозга.

При общем положительном заключении о целесообразности и безопасности применения симвастатина в дозе 20 мг/сут у пациентов старческого возраста с явлениями ХСН остается не решенным целый ряд вопросов, в частности возможность увеличения дозы симвастатина (ведь уровень ЛПВП к концу периода наблюдения вернулся, практически, к исходным показателям). Возникает вопрос: будет ли сохраняться положительный клинический эффект и в дальнейшем или результаты назначения симвастатина будут постепенно нивелироваться? Остается не ясным, всегда ли плеiotропный эффект препарата совпадает с его гиполипидемическим свойством. Эти вопросы требуют своего разрешения. В целом же, результаты выполненной работы не оставляют сомнений в том, что даже один дополнительный год активной жизни у людей старческого возраста стоит затраченных сил и средств.

Литература

1. Арутюнов Г. П. Коронарный атеросклероз. Новые данные для нового взгляда на вечную проблему // Сердце. 2002. № 1. С. 44–46.
2. Беленков Ю. Н., Мареев В. Ю., Арутюнов Г. П., Агеев Ф. Т. Национальные рекомендации по диагностике и лечению ХСН // Сердеч. недостаточность. 2002. № 6. С. 261–280.
3. Емченко Н. Л., Цыганенко О. И., Ковалевская Т. В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // Клини. лаб. диагностика. 1994. № 6. С. 19–20.
4. Классификация ХСН ОССН 2002 // Сердеч. недостаточность. 2003. № 2 (18). С. 88–89.
5. Коробейникова Э. Н. Показатели липидного обмена в сыворотке крови практически здорового населения, проживающего в Южно-Уральском регионе в условиях адаптации к климатическим и техногенным воздействиям: Метод. реком. Челябинск, 2002.
6. Передерий В. Г., Хмелевский Ю. В., Коноплева Ю. Ф. и др. Клиническая оценка биохимических показателей при заболеваниях внутренних органов. Киев, 1993.
7. Терещенко С. Н., Ускач Т. М., Кочетов А. Г. Показатели системы гемостаза при декомпенсации хронической сердечной недостаточности до и после терапии эноксапарином // Сердеч. недостаточность. 2002. № 6. С. 289–291.
8. Фомин В. В., Козловская Л. В. С-реактивный белок и его значение в кардиологической практике // Consilium Medicum. 2003. № 5. С. 247–250.
9. Шевченко О. П. Высокочувствительный анализ С-реактивного белка и его применение в кардиологии // Лаб. медицина. 2003. № 6. С. 35–41.
10. Bonetti P. O., Wilson S. H., Rodriguez-Porcel M. et al. Simvastatin preserves myocardial perfusion and coronary microvascular permeability in experimental hypercholesterolemia independent of lipid lowering // J. Amer. Coll. Cardiol. 2002. Aug 7. № 40(3). P. 546–554.
11. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow // Scand. J. clin. Lab. Invest. Suppl. 1968. № 97. P. 7.
12. Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk atherosclerosis // Lancet. 1992. № 344. P. 1111–1115.

13. *Horwich T., Hamilton M., MacLellan W., Fonarow G.* Low serum total cholesterol is associated with marked increase in mortality in advanced heart failure // *J. Cardiovasc. Fail.* 2002. № 8. P. 216–224.
14. *Koh K. K., Son J. W., Ahn J. Y.* et al. Non-lipid effects of statin on hypercholesterolemic patients established to have coronary artery disease who remained hypercholesterolemic while eating a step-II diet // *Coron. Artery Dis.* 2001. № 12(4). P. 305–311.
15. *Kureishi Y., Luo Z., Shiojima I.* et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals // *Nat. Med.* 2000. № 6(9). P. 1004–1010.
16. *Pignoli P.* Ultrasound B-mode imaging for arterial wall thickness measurement // *Ater. Pev.* 1986. Vol. 2. P. 177–184.
17. *Pintaric I., Eterovic D., Tocilj J.* et al. Effect of simvastatin on micropulmonary red cell mass in patients with hyperlipoproteinemia // *Atherosclerosis.* 2001. № 154. P. 493–496.
18. *Rauchhaus M., Clark A., Doehner W.* et al. The relationship between cholesterol and survival in patient with chronic heart failure // *J. Amer. Coll. Cardiol.* 2003. Vol. 42. № 11. P. 1933–1940.
19. *Rosenson R. S., Tangney C. C.* Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction // *J.A.M.A.* 1998. May 27. № 279(20). P. 1643–1650.
20. *Simons L. A., Levis G., Simons J.* Apparent discontinuation rates in patients prescribed lipid-lowering drugs // *Med. J. Aust.* 1996. Feb. 19. № 164(4). P. 208–211.
21. *Undas A., Brummel K. E., Musial J.* et al. Simvastatin depresses blood clotting by inhibiting activation of prothrombin, factor V, and factor XIII and by enhancing factor Va inactivation // *Circulation.* 2001. May 8. № 103(18). P. 2248–2253.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 356–363

A. L. Pirogov, D. A. Altman, E. M. Ermak, E. V. Davydova

PLEIOTROPIC EFFECTS OF SMALL DOSES SIMVASTATIN IN PATIENTS OF SENILE AGE WITH CHRONIC HEART FAILURE

Chelyabinsk regional clinical therapeutic hospital for veterans of wars, 8 Med. Gorodok, Chelyabinsk 454076, Russia; e-mail: doctor.pyrogov@mail.ru

The pleiotropic effects of simvastatin in a daily dose of 20 mg in persons of senile age with chronic heart failure were studied in the submitted work. The practical opportunity to reduce the risk of acute vascular events, improvement of vascular endothelium function and relative safety of application of the preparation in the specified dosage at persons of senile age is shown.

Key words: *senile age, simvastatin, pleiotropic effects, endothelium-dependent vasodilatation, chronic heart failure, outcomes*

Б. А. Толчёнов¹, Н. В. Кутузова²

МЕДИКО-СОЦИАЛЬНАЯ ПОМОЩЬ НЕМОБИЛЬНЫМ БОЛЬНЫМ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА

¹ Нижегородская государственная медицинская академия, 603155 Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., 26;

² МЛПУ «Городская поликлиника № 6», 603002 Нижний Новгород, ул. Приокская, 14

*Статья посвящается светлой памяти
Эллы Соломоновны Пушкиной —
одному из организаторов медико-социальной
помощи в Санкт-Петербурге*

В Нижнем Новгороде, как и во всей России, демографическая ситуация характеризуется ростом доли лиц пожилого возраста. Среди людей старших возрастных групп 4,5–5% составляют немобильные больные, которые не обеспечиваются качественной медико-социальной помощью. В статье освещен опыт работы отделения медико-социальной помощи территориальной поликлиники, работа которого основана на функциональном взаимодействии с органами социальной защиты. Отмечены причины утраты способности к самообслуживанию, особенности возрастной структуры немобильных больных. Проанализирована эффективность работы отделения.

Ключевые слова: медико-социальная помощь, территориальная поликлиника, немобильные пожилые больные

Глобальность проблемы старения населения стала очевидной во 2-й половине XX в. По прогнозам ООН, к 2025 г. численность людей старше 60 лет превысит 1 млрд. Похожая ситуация складывается и в России. С 1939 по 2000 г. доля пожилого населения увеличилась с 6,7 до 20,2% [3].

В целом по России около 1,5 млн граждан старших возрастных групп нуждаются в посторонней помощи [1, 2]. Только 28,5% пожилых полностью сохранили способность к самообслуживанию [7]. Каждый пятый пожилой хотел, чтобы ему во время болезни доставляли на дом продукты питания, лекарства и была бы помощь по уходу [8]. Учитывая, что дома-интернаты и центры социальной защиты населения могут обеспечить помощью не более 30% нуждающихся, можно сделать вывод, что существующая система медико-социальной помощи пожилым больным работает малоэффективно. Пожилые люди предоставлены сами себе, что сравнимо с экспериментом на выживаемость [4].

В период с 1991 по 1996 г. во многих городах России созданы учреждения по обслуживанию пожилых людей, оказывающие лечебную и социальную помощь. Медицинская помощь больным старших возрастных групп оказывается в госпиталях, гериатрических центрах, гериатрических отделениях. Социальную помощь пожилые больные получают со стороны органов социальной защиты населения. Медицинские и социальные структуры работают изолированно друг от друга. Возникла необходимость объединить усилия этих служб и максимально приблизить медико-социальную помощь к пожилому человеку, что при небольших материальных затратах осуществимо на базе территориальной поликлиники [5, 6, 8].

В Нижегородской области, как и во всей России, демографическая ситуация характеризуется ростом доли лиц пожилого возраста. Высокая заболеваемость этого возрастного контингента приводит к увеличению нагрузки на службы здравоохранения. Кроме того, около 4,5–5% лиц старших возрастных групп составляют немобильные больные, которые в силу ограничения жизненных возможностей не могут полностью себя обслуживать, а также посещать медицинские учреждения [10, 11].

Нижний Новгород оказался регионом, идущим в ногу со временем. В 1990 г. был создан Областной геронтологический центр, осуществляющий лечебно-диагностическую, научно-исследовательскую и организационно-методическую работу. С 1992 г. открыты отделения и больницы сестринского ухода, а с 1995 г. в поликлиниках начали работать гериатрические кабинеты. В Нижегородской медицинской академии в 1992 г. был открыт курс геронтологии и гериатрии, а в 1998 г. организована кафедра геронтологии и общей врачебной практики [10].

Гериатрическая помощь пожилым больным в МЛПУ «Городская поликлиника № 6» оказывается с 1995 г. Сначала был организован гериатрический кабинет.

трический кабинет, где параллельно с оказанием консультативной помощи проводили исследования состояния здоровья и социальных проблем пожилого населения. Был создан компьютерный банк данных лиц старших возрастных групп, среди них выделены диспансерные группы: немобильные больные, одинокие и больные с признаками преждевременного старения. Проведенный анализ показал, что немобильные пожилые больные (НПБ) не обеспечиваются качественной медико-социальной помощью. Невозможность проведения адекватных лечебных и реабилитационных мер, отсутствие взаимодействия между социальными структурами и поликлиникой заставило организовать новое в то время структурное подразделение.

По рекомендации кафедры геронтологии и общей врачебной практики Нижегородской государственной медицинской академии и при содействии организационно-методического отдела областного геронтологического центра в районной поликлинике № 6 в 1997 г. было организовано отделение медико-социальной помощи (ОМСП), которое основывалось на функциональном объединении гериатрического кабинета и отделения помощи на дому муниципального центра социальной защиты населения. Медсестры и социальные работники этого центра работали под руководством врачей-гериатров. Основная деятельность ОМСП заключалась в следующем:

- консультативный прием пожилых больных в поликлинике, отбор на лечение в отделение реабилитации или дневной стационар поликлиники;
- диспансерное наблюдение за лицами с признаками преждевременного старения;
- формирование здорового образа жизни у лиц пожилого возраста;
- мониторинг состояния здоровья в группе НПБ, оказание им медико-социальной помощи, организация стационаров на дому, проведение курсов физиотерапевтического лечения и реабилитационных мер.

После выхода в 1999 г. приказа № 297 МЗ РФ в штатном расписании ОМСП появились следующие ставки: 2 врача-гериатра; 4,5 патронажных медсестры; врачи-консультанты (0,25 ставки невролога, 0,25 — окулиста, 0,25 — психотерапевта); водитель автомобиля. В функциональном подчинении — 12 социальных работников.

Основной задачей отделения является оказание медико-социальной помощи НПБ. Они распределены на три группы в зависимости от степени утраты способности к самообслуживанию; на каждого

заведена электронная медицинская и социальная карты, установлена кратность посещений на дому врачом-гериатром и патронажными медсестрами. Отбор пожилых больных в ОМСП проводит врач-гериатр совместно с участковой и социальной службой.

Распределение функциональных обязанностей среди сотрудников ОМСП

Заведующий отделением (врач-гериатр) осуществляет:

- координацию работы персонала ОМСП;
- консультативный прием в поликлинике;
- отбор больных на лечение в дневном стационаре, в отделение реабилитации;
- выявление лиц с признаками преждевременного старения;
- взаимодействие со службой социальной помощи;
- сотрудничество с общественными и религиозными организациями.

В обязанности врача-гериатра входит:

- диспансерное наблюдение за НПБ;
- оценка состояния здоровья, способности к самообслуживанию и решение вопроса о постановке на учет больных, нуждающихся в медико-социальной помощи;
- организация лечебных и реабилитационных мер в группе НПБ при ухудшении их самочувствия;
- контроль работы среднего персонала, выполнения назначений;
- контакт с близкими родственниками пациентов.

Обязанности медсестер:

- посещение на дому немобильных больных, наблюдение за состоянием их здоровья;
- ежедневный отчет перед гериатрами;
- забор материала для лабораторных исследований;
- проведение инструментальных исследований (ЭКГ, функциональная диагностика);
- проведение медицинских и реабилитационных процедур (инъекции, перевязки, измерение АД, проведение физиотерапевтического лечения портативными аппаратами).

Медсестры отделения помощи на дому муниципального центра и социальные работники осуществляют:

- санитарно-гигиеническую помощь;
- доставку продуктов питания, лекарственных препаратов;

Возрастная структура НПБ на участке обслуживания ОМСП в 2001 г.

Количество больных	Возраст, лет							Всего
	60–64	65–69	70–74	75–79	80–84	85–89	90 и старше	
Абс. число	5	9	29	63	73	57	19	255
%	1,9	3,5	11,4	24,7	28,6	22,4	7,5	100

— контроль правильности приема медикаментов;
 — оплату коммунальных услуг;
 — посещение больных при госпитализации;
 — вызов врача при ухудшении состояния здоровья.

На территории обслуживания поликлиники проживают 4263 человека старше 60 лет. Под наблюдением ОМСП находятся 255 НПБ, из них 51 — мужчины, 204 — женщины. У каждого больного была определена степень утраты способности к самообслуживанию (использовалась несколько модифицированная анкета Городского гериатрического медико-социального центра, Санкт-Петербург) [9]. Согласно проведенному анкетированию, периодически выйти во двор может 71 человек, ограничены пределами квартиры 143 человека, не могут передвигаться («узники комнаты» и лежачие больные) 41 человек. Проживают одиноко 69 человек, проживают одиноко, но имеют родственников в городе — 41 человек. Распределение по возрастным группам представлено в табл. 1. Как видно из таблицы, максимальное количество немобильных больных приходится на возраст 75 лет и старше.

После медицинского обследования были определены и основные причины утраты способности

к самообслуживанию (табл. 2). Максимальное количество (48,6 %) составили больные с цереброваскулярными заболеваниями (после перенесенных инсультов, больные с вертебробазилярной недостаточностью и выраженным слабоумием). На втором месте (21,2 %) — больные с заболеваниями опорно-двигательного аппарата, на третьем (12,5 %) — пациенты с выраженной сердечной недостаточностью, тяжелыми формами аритмии, высоким ФК стенокардии.

За период работы отделения удалось снизить уровень госпитализации среди всего пожилого населения на 36 % (со 175 в 1997 г. до 112 в 2001 г.), а в немобильной группе — на 43 %. Уменьшилось количество вызовов участковых врачей ко всем пожилым пациентам и, в частности, к больным немобильной группы на 33 %. Благодаря работе отделения уменьшилось количество вызовов скорой медицинской помощи на 31 % (табл. 3).

Главным преимуществом ОМСП является «плавающая» система обслуживания. Частота посещения больного определяется врачом-гериатром и зависит от тяжести состояния и степени утраты способности к самообслуживанию. При улучшении состояния пациент может быть снят с учета. Медико-социальная помощь оказывается бесплатно не только одиноким, но и больным, живущим с родственниками.

Большая роль в работе ОМСП отводится среднему медицинскому персоналу, что облегчает работу врачей. Активная работа персонала привела к существенному снижению количества принимаемых медикаментов, что не только снижает затраты бюджета на льготную группу лекарств, но и положительно оценивается пациентами.

В ОМСП разработаны и адаптированы компьютерные программы контроля состояния больных, отслеживается эффективность совместной работы медицинской и социальной служб.

Выводы

Организация ОМСП на базе территориальной поликлиники позволяет максимально приблизить

Таблица 2

Распределение НПБ по заболеваниям, вызвавшим утрату способности к самообслуживанию (по данным ОМСП в 2001 г.)

Причина	Абс. число	%
Цереброваскулярные заболевания	124	48,7
Заболевания опорно-двигательного аппарата	54	21,2
ИБС	32	12,5
Облитерирующие заболевания сосудов нижних конечностей	20	7,8
Заболевания органов чувств	10	3,9
Заболевания органов дыхания	9	3,5
Опухолевые заболевания	6	2,4
Всего	255	100

Обращаемость за медицинской помощью в группе НПБ на территории обслуживания ОМСП в 1997–2001 гг. (на 1000 чел.)

Количество обращений	Год				
	1997	1998	1999	2000	2001
Госпитализация	107	91	79	63	57
Вызовы участковых врачей	10 033	9 753	9 413	7 983	6 749
Вызовы скорой медицинской помощи	3 760	3 389	3 353	2 954	2 600

медико-социальную помощь к больным, утратившим способность к самообслуживанию.

Работа ОМСП экономически эффективна, так как позволяет снизить потребность в дорогостоящих видах медицинской помощи (стационарная, скорая медицинская помощь).

Активное наблюдение и своевременное проведение реабилитационных мер силами ОМСП позволяет улучшить качество жизни немобильных пожилых больных.

Литература

1. Байрамукова Т. С., Конобевцев Д. О. Потребность лиц пожилого и старческого возраста в медико-социальной помощи на дому // Клинический геронтолог. 2001. № 8. С. 83.
2. Бондаренко И. Н. Социально-демографические аспекты проблемы старения населения России и универсальные гуманитарные нормы: Матер. консультативного междунар. семинара. М.: МЗМП РФ, 1995. С. 28–29.
3. Введенская Е. С., Толчёнов Б. А. Социальная помощь пожилым с различными функциональными способностями // Сб. статей и тез. докл. и лекций II Междунар. семинара по вопросам пожилых. Самара, 1998. С. 12.

4. Карюхин Э. В. Старение населения: демографические показатели // Клинический геронтолог. 2000. № 1–2. С. 56–61.

5. Карюхин Э. В. Геронтологическая популяция: потребность в помощи и увеличении ресурсов // Клинический геронтолог. 2001. № 10. С. 49–53.

6. Лазебник Л. Б. Необходимость создания гериатрической службы в структуре органов здравоохранения // Клинический геронтолог. 1999. № 1. С. 3–7.

7. Маругина И. В., Едакова М. Л. Долговременная медико-социальная помощь на дому лицам пожилого возраста // Клинический геронтолог. 1997. № 4. С. 66–69.

8. Матвеев Э. Н., Калининская А. А. К вопросу о координации задач служб здравоохранения и социального обеспечения в стационарном обслуживании пожилых // Матер. консультативного междунар. семинара. М.: МЗМП РФ, 1995. С. 42.

9. Пушкова Э. С. Современные геронотехнологии в жизни зависимых пожилых людей // Сб. статей и тез. докл. II Междунар. семинара по вопросам пожилых (Ч. I). Самара, 1997. С. 42–44.

10. Толчёнов Б. А., Введенская Е. С. Медико-демографическая ситуация в связи с постарением населения и здоровье пожилых в крупном регионе России // Нижегородский медицинский журнал. 1999. № 1. С. 55–61.

11. Толчёнов Б. А., Исаев А. П., Введенская Е. С. Геронтологическая служба территории и пути интеграции медицинской и социальной помощи пожилым // Успехи геронтолог. 1997. № 1. С. 93–98.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 364–367

B. A. Tolchyonov¹, N. V. Kutuzova²

MEDICAL-SOCIAL SUPPORT TO THE IMMOBILE ILL ELDERLY LIVING IN A MEGA POLIS

¹ State Medical Academy, 26 Verkhne-Volzhskaia nab., Nizhny Novgorod 603155; ² Municipal polyclinic № 6, 14 Priokskaya ul., Nizhny Novgorod 603002, Russia

The article describes the working experience of the medical-social support department of the municipal clinic. The work is based on the cooperation with the department of social security. The article focuses on the reasons of decreasing the function ability of such people and age-related features of immobile elderly people. The effective functioning of the medical-social support department is being analyzed.

Key words: *medical-social support, local polyclinic, immobile elderly patients*

К. И. Процаев¹, А. Н. Ильницкий², Д. С. Медведев³, А. А. Алтухов³, Д. В. Аксенов³,
Г. Н. Совенко¹, Е. Н. Бурименко³

МЕСТО И РОЛЬ КВЧ-ТЕРАПИИ В МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

¹ Белгородский государственный университет, Россия, 308015 Белгород, ул. Победы, 85; e-mail: prashchayeu@yandex.ru;

² Новополоцкая центральная городская больница, Беларусь, 211440 Новополоцк, ул. Гайдара, 4; e-mail: ilnitski@tut.by;

³ Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Россия, 197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3;
e-mail: doctor-kir@yandex.ru

В статье представлены результаты собственных 49 исследований, демонстрирующих положительные клинические эффекты включения КВЧ-терапии в программы медицинской реабилитации хронической обструктивной болезни легких у больных пожилого возраста.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, пожилой возраст, КВЧ-терапия

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) объединяет группу хронических заболеваний дыхательной системы, при которых развивается медленно прогрессирующая необратимая бронхиальная обструкция с постепенно нарастающими явлениями дыхательной недостаточности. К этим заболеваниям относят хронический обструктивный бронхит, эмфизему легких, бронхиальную астму тяжелого течения, в некоторых странах — облитерирующий бронхит, муковисцидоз, бронхоэктатическую болезнь. Патогенетической основой ХОБЛ является воспаление легочной ткани и бронхов, возникающее на фоне воздействия патогенными частицами и газами.

ХОБЛ представляет собой значительную медико-социальную проблему, поскольку она, по данным разных авторов, регистрируется почти у 4 % людей европейской популяции; уровень смертности от ХОБЛ колеблется от 2,3 до 41,4 случая на 100 000 населения. Средняя продолжительность жизни после постановки диагноза тяжелой ХОБЛ составляет не более восьми лет. Кроме того, наличие одышки, продуктивного кашля, общей слабости и утомляемости приводит к значительному снижению качества жизни [2, 4]. Это диктует необходимость поиска новых методов лечения и реабилитации пациентов с ХОБЛ [1, 3, 5].

Цель исследования — изучить эффективность коротковолноволновой терапии (КВЧ-терапии) при реабилитации пожилых пациентов с ХОБЛ.

Материалы и методы

Проведено открытое рандомизированное контролируемое исследование эффективности реабилитационных программ с включением метода КВЧ-терапии у пожилых пациентов с умеренной ХОБЛ.

Диагноз умеренной ХОБЛ верифицирован на основе данных анамнеза (длительный период курения или контакта с поллютантами), жалоб (одышка при нагрузках средней интенсивности, продуктивный кашель), физикального осмотра (перкуторный звук с коробочным оттенком, ослабленное дыхание), инструментальных показателей (спирография — объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1) 40–59 % от должного; бронхолитические тесты — прирост ОФВ1 на фоне ингаляции беродуала в среднем на 7,6 %, что свидетельствует о наличии необратимой бронхиальной обструкции; рентгенография — неструктурные корни, обеднение легочного рисунка и повышенная прозрачность легочных полей).

Критериями включения в исследование были наличие ХОБЛ умеренной степени выраженности, исключения — легкая и выраженная ХОБЛ, сопутствующая сердечно-сосудистая патология с сердечной недостаточностью более I стадии по классификации NYHA, инсульт или инфаркт в анамнезе, облитерирующие заболевания сосудов ног более I стадии.

Для нивелирования систематической ошибки на этапе отбора проведена рандомизация 49 паци-

ентов с умеренной ХОБЛ на две группы. Опытная группа состояла из 25 больных, которые, наряду с традиционной терапией ингаляционными бронходилататорами, метилксантинами и десенсибилизирующими средствами, прошли реабилитацию в поликлинике — 3 курса по 2 нед, стационаре — 1 курс 2 нед, санатории — 1 курс 3 нед на протяжении 9 мес с включением КВЧ-терапии в поликлинике дважды по 15 сеансов.

В контрольную группу вошли 24 пациента, которые получали традиционную медикаментозную терапию и реабилитационные мероприятия по аналогичной с опытной группой схеме без применения КВЧ-терапии. Общий период наблюдения составил 18 мес.

Средний возраст больных — $61,2 \pm 3,7$ года, в исследование вошли 36 мужчин и 13 женщин. Динамику состояния пациентов фиксировали на 3-й, 6-й месяц и в конце периода реабилитации (9-й месяц), а затем на 12-й и 18-й месяцы от начала исследования.

Для этого использовали методы объективизации одышки с помощью визуальной шкалы одышки (шкала из 100 пунктов, напротив которой больной фиксирует выраженность одышки после 6-минутной ходьбы), определяли физическую работоспособность (велоэргометрически и с помощью теста с 6-минутной ходьбой — расстояние, которое способен пройти пациент на протяжении 6 мин), состояние функции внешнего дыхания (спирографически).

КВЧ-терапию проводили аппаратом «Сет Теч» (ООО «Спинол», Томск). Исследование завершили 38 больных, остальные выбыли по причине несоблюдения протокола.

Статистическая обработка данных выполнена с привлечением компьютерной программы Statgraphics plus for Windows, версия 7,0 на основе *t*-критерия Стьюдента, разница достоверна при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате исследования выявлено, что в опытной группе имеет место достоверное улучшение показателей физической работоспособности с 3-го месяца от момента начала исследования, которые нарастают в 6 мес, сохранялись на достигнутом уровне с 9-го по 12-й мес, а затем, к 18 мес, несколько уменьшались; при этом отмечалась их разность по сравнению с показателями в начале реабилитации, $p < 0,05$.

Аналогичные тенденции выявлены при изучении динамики расстояния, пройденного пациентом в течение 6 мин, $p < 0,05$. Показатели спирограммы достоверно не изменились. Степень одышки уменьшилась, что достигло статистической значимости уже в 3 мес, сохранялась на одном уровне на протяжении периода реабилитации и не имела тенденции к значимому уменьшению после ее окончания в 12 и 18 мес, $p < 0,05$.

В контрольной группе была выявлена положительная динамика показателей физической работоспособности в 3 и 6 мес, которые уменьшились в 9 мес и пришли к исходному уровню к 12 мес, $p < 0,05$. Расстояние, пройденное пациентом за 6 мин, увеличилось в 3 и 6 мес, сохранялось на достигнутом уровне в 9 мес, вернулось к исходному уровню к 18 мес исследования, $p < 0,05$. Степень одышки имела тенденцию к уменьшению в 3 и 6 мес и сохранялась на этом уровне в течение всего периода исследова-

Динамика состояния пациентов с ХОБЛ

Показатель	Группа	Время исследования, мес					
		до начала программ	3-й	6-й	9-й	12-й	18-й
Физическая работоспособность, кгм/мин	опытная	453,6±13,5	495,6±12,6 ^{1*)}	543,9±13,0 ^{1*), 2*)}	534,4±12,8 ^{1*), 2*)}	532,9±11,9 ^{1*), 2*)}	512,0±14,8 ^{1*), 2*)}
	контрольная	461,8±8,0	485,3±11,3 ^{1*)}	468,2±9,7 ^{1*), 2*)}	462,0±11,1 ^{2*)}	456,8±9,5 ^{2*)}	461,9±8,9 ^{2*)}
Тест с 6-минутной ходьбой, м	опытная	231,8±3,2	296,6±2,8 ^{1*)}	312,3±2,2 ^{1*)}	304,5±3,4 ^{1*), 2*)}	296,4±2,7 ^{1*), 2*)}	275,1±3,5 ^{1*), 2*)}
	контрольная	228,9±2,7	298,3±1,5 ^{2*)}	312,0±2,3 ^{2*)}	271,4±2,7 ^{1*), 2*)}	267,9±2,9 ^{1*), 2*)}	238,4±2,5 ^{2*)}
Переносимость одышки, баллы	опытная	4,4±0,1	6,7±0,2 ^{1*), 2*)}	7,9±0,2 ^{1*), 2*)}	8,1±0,2 ^{1*), 2*)}	8,0±0,1 ^{1*), 2*)}	7,8±0,2 ^{1*), 2*)}
	контрольная	4,5±0,2	5,9±0,3 ^{1*), 2*)}	6,3±0,1 ^{1*), 2*)}	5,8±0,3 ^{1*), 2*)}	5,9±0,1 ^{1*), 2*)}	5,6±0,2 ^{1*), 2*)}
ОВФ1, %	опытная	82,5±1,2	84,4±1,3	85,1±1,0	82,2±1,1	83,5±1,2	84,7±1,1
	контрольная	82,1±0,8	82,5±1,4	81,7±1,5	82,6±1,6	82,3±1,6	83,5±1,8

^{1*)} Различия с исходными параметрами, $p < 0,05$

^{2*)} Различия между группами, $p < 0,05$

ния до 18 мес, $p < 0,05$. Показатель ОФВ1 достоверно не изменился (таблица).

Сравнение данных, полученных в опытной и контрольной группах, показывает, что в результате применения КВЧ-терапии имеет место большая степень увеличения мобильности, физической работоспособности и толерантности к одышке ($p < 0,05$), которые сохраняются на протяжении 9 мес после окончания реабилитации.

Реабилитация в настоящее время расценивается как «золотой стандарт» ведения пациентов с ХОБЛ. В странах СНГ реабилитационные меры осуществляют на амбулаторно-поликлиническом, стационарном и санаторном этапах [1, 4].

В проведенном исследовании поликлинические мероприятия заключались в обучении всех больных (занятия в «Школе больного») групповым методом в ходе 12 одночасовых занятий, психоэмоциональной поддержке (96 % пациентов) в виде занятий с психотерапевтом и психологом, назначении активной кинезотерапии. Были рекомендованы 30-минутные занятия через день на тредмиле (78 % больных) и велоэргометре (82 %) для укрепления мышц нижних конечностей, 20-минутные занятия через день на тренажерах с подъемом рук для тренировки мышц рук и плечевого пояса (96 %), занятия гимнастикой с созданием экспираторного сопротивления дыханию (74 %). Патофизиологические механизмы предлагаемых методик заключаются в уменьшении сопротивления в бронхах за счет удлинения выдоха, повышения внутриплеврального давления, уменьшении бронхоспазма; устранении «воздушной ловушки» за счет исключения форсированного дыхания, повышения экономичности работы вспомогательной дыхательной мускулатуры; уменьшении функциональной остаточной емкости легких в связи с повышением эффективности выдоха, усиления подвижности диафрагмы. Кроме этого, эти занятия способствуют обеспечению оптимальной аэрации легких. Так, обучение носовому дыханию и упражнениям с сопротивлением вдоху дают возможность повысить полноту и эффективность вдоха, обеспечить максимальную равномерную вентиляцию. Одновременно проводили обучение по выполнению этих методик в домашних условиях в период между курсами поликлинических мероприятий по индивидуальным схемам. Были рекомендованы также электростимуляция диафрагмы (66 %), ряд методов аппаратной физиотерапии и массаж (44 %). Это приводит к стимуляции диафрагмального дыхания, улучшению отхождения мокроты и

дренирования бронхов, повышению подвижности позвоночника и ребер, что, в свою очередь, приводит к улучшению эластичности структур грудной клетки и оптимизации аэрации. Восстановление носового дыхания, увеличение подвижности грудной клетки, тренировка дыхательной мускулатуры, коррекция осанки имеют важное значение для уменьшения увеличенной при ХОБЛ энергетической цены дыхания. Кроме того, активные занятия способствуют повышению степени тренированности кардиореспираторной системы и поперечно-полосатых скелетных мышц, снижению отрицательных влияний на них гипоксии [1].

В условиях стационара назначали, преимущественно, кинезотерапию в облегченном режиме, вибрационно-перкуSSIONный массаж грудной клетки (76 %), аппаратную физиотерапию (36 %). Это позволяет поддерживать достигнутые на поликлиническом этапе результаты на фоне обострения ХОБЛ.

В санатории на первый план выходили методы климатотерапии, терренкур, гелиоталассотерапия, которые повышают общую неспецифическую сопротивляемость организма, приводят к улучшению тканевого дыхания [1, 2].

В нашем исследовании особенностью реабилитационных программ в опытной группе было применение КВЧ-терапии — лечебного способа воздействия электромагнитным излучением миллиметрового диапазона (1–10 мм) крайне высокой частоты (30–300 ГГц), низкой интенсивности (менее 10 мВт/см²). Особенностью миллиметровых электромагнитных волн является низкая проникающая способность в биологические ткани (до 1 мм), причем они активно поглощаются поверхностными слоями кожи и не оказывают теплового воздействия.

Показана возможность передачи миллиметровых волн от поверхностных покровов в глубинные ткани организма, не исключается вероятность и прямого действия излучения на внутренние органы и клетки. Электромагнитное излучение миллиметрового диапазона не разрушает меж- и внутримолекулярные сильные связи, однако молекулы поглощают энергию этого излучения. Вполне вероятно, что миллиметровые волны могут влиять на слабые электростатические связи (водородные, полярные, гидрофобные), которым принадлежит ведущая роль в поддержании пространственной структуры (конформации) биологических молекул и надмолекулярных структур. Через модификацию слабых взаимодействий волны могут изменять

физико-химические свойства белков, липидов, каталитические свойства ферментов, прочность (стабильность) липопротеиновых и других комплексов [3, 5].

В настоящее время электромагнитные волны миллиметрового диапазона успешно применяют для лечения болезней органов кровообращения, дыхания, пищеварения, мочеполовой, эндокринной и нервной систем, детских болезней, а также в акушерстве и гинекологии. Перспективной представляется детализация их применения при климактерическом синдроме [3, 5].

Отмечаемый полилечебный эффект КВЧ-терапии может быть объяснен с позиции уникального механизма ее действия, отличного от известных физических факторов. В реализации лечебного эффекта принимают участие центральная нервная система, периферическая нервная система, защитно-регуляторные системы организма [3].

КВЧ-излучение, поглощенное кожными рецепторами, оказывает возбуждающее действие на вегетативную, эндокринную и иммунную системы, а также на активацию системы опиоидных рецепторов (энкефалинов). При ХОБЛ эти эффекты способствуют улучшению бронхиальной проводимости и отхождению мокроты, тренировке и укреплению дыхательной мускулатуры, что приводит к увеличению мобильности, повышению выносливости и толерантности к физической нагрузке. Повышение продукции опиоидов способствует стабилизации психического статуса, нивелированию сопутствующих психотических явлений.

Выводы

Реабилитационные программы при умеренной ХОБЛ в пожилом возрасте обладают значительной эффективностью, способствуя повышению физической работоспособности, качества жизни, переносимости одышки, а также способности пациента к передвижению.

Реабилитационные занятия при умеренной ХОБЛ с добавлением метода КВЧ-терапии в достоверно большей степени способствуют положительной динамике мобильности, качества жизни, физической работоспособности, терпимости к одышке без влияния на показатель ОФВ1.

Перспективным представляется изучение эффективности КВЧ-терапии при ХОБЛ легкой степени, а также при реабилитации пациентов, перенесших объемредуцирующие операции на легких.

Литература

1. Ильницкий А. Н. Программы и эффективность реабилитации пациентов с обструктивной болезнью легких // Мед. новости. 2002. № 8. С. 9–13.
2. Ильницкий А. Н., Прощаев К. И., Семенов И. П. Очерки о хронической обструктивной болезни легких. Минск: ПаркусПлюс, 2005.
3. Смычек В. Б. Основы реабилитации. Минск: Изд-во БелГИУВ, 2000.
4. Хронический бронхит и обструктивная болезнь легких / Под ред. А. Н. Кокосова. СПб.: Лань, 2002.
5. Улащик В. С., Лукомский И. В. Основы общей физиотерапии. Минск, 1997.

Adv. gerontol. 2009. Vol. 22, № 2. P. 368–371

*K. I. Prashchayeu¹, A. N. Ilnitski², D. S. Medvedev³, A. A. Altuchov³, D. V. Aksyonov³,
G. N. Sovenko¹, E. N. Burimenko³*

THE USE OF THE SHORT-WAVE THERAPY IN REHABILITATION OF ELDERLY PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

¹ Belgorod State University, 85 pr. Pobedy, Belgorod 308015, Russia; e-mail: prashchayeu@yandex.ru;

² Novopolotsk Central Municipal Hospital, 4 ul. Gaidara, Novopolotsk 211440, Belarus;

e-mail: ilnitski@tut.by; ³ St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology of NWB of RAMS, 3, pr. Dinamo, St. Petersburg 197110, Russia; e-mail: doctor-kir@yandex.ru

The positive clinical effects of using the short-wave therapy in rehabilitation of patients with chronic obstructive pulmonary disease are presented in this article. 49 patients were included in this investigation. The criteria of successful rehabilitation were more expressive in the cases when the short-wave therapy was included in rehabilitative program.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, elderly, short-wave therapy

Рецензия на монографию:

Москалёв А. А. Старение и гены. СПб.: Наука, 2008.

Рецензируемый труд — третья за последние 5 лет монография А. А. Москалёва — докт. биол. наук ведущего научного сотрудника Института биологии Коми НЦ УрО РАН заместителя председателя Сыктывкарского отделения Геронтологического общества РАН. Стратегически монография развивает принципиальную авторскую позицию — его научное кредо. Отправная точка этой позиции состоит в том, что есть генетика старения (сенильных процессов) и есть генетика продолжительности жизни как количественного видового признака. Но есть и общее игровое поле — филонтогенетический подход. А потому принципиальным является исследование генетических механизмов инволюционного этапа онтогенеза в контексте генетических механизмов продолжительности жизни. С другой стороны, союз «и» (генетика старения и продолжительности жизни) позволяет избежать весьма распространенной подмены понятий «старение» и «старость» понятием «продолжительность жизни». Такая подмена — отнюдь не безобидный семантический трюк, поскольку, в частности, неоправданно расширяет границы экстраполяции на человека данных, полученных на традиционных генетических моделях (мухах, червях, дрожжах и клеточных культурах).

Актуальность квалифицированной аналитической сводки современных достижений в области генетики старения и продолжительности жизни связана с беспрецедентным ростом высокотехнологичных разработок в этой отрасли знаний за последнее десятилетие. Как и подчеркивает автор, речь идет именно о качественном прорыве и модификации (смене?) устоявшихся парадигм генетики. Как полвека назад, прижизненная микроскопия клетки констатировала ее принципиальную стационарность, так и сегодня ген больше не рассматривается как «закрытая» стационарная система хранения наследуемой информации. Напротив, появляется все больше научных данных о пластичности генов, их адапционных свойствах, способности чутко, подобно струнам, реагировать на изменения весьма сложной партитуры внутренней и внешней (включая социальную*) среды человека.

Как сформулированная восемь десятилетий назад дефиниция «гомеостаз» трансформировалась в лабильный индивидуальный «гомеостатический портрет», зависимый от фактора времени и многих других факторов, так и сегодня все отчетливее просматриваются закономерные возрастные и адаптивные тканеспецифичные изменения активности генов.

Подкупает целостность рецензируемого монографического труда, которая зиждется на его законченности, как и на репрезентативности использованных литературных источников. «Между строк» ощущается, что 551 наименование списка цитированных первоисточников — лишь «вершина айсберга» того литературного пласта, который автор проработал в процессе подготовки монографии. Законченность — вердикт, выносимый на основании сопоставления задач и выводов монографического исследования, их семантической комплементарности. В этой связи напрашивается аналогия монографии А. А. Москалёва с добротной квалификационной работой. Такая аналогия, полагаю, — весьма желательная характеристика монографической формы эпистолярного жанра. В главе «Введение» анонсирована цель и задачи в рамках корректно сформулированной цели. Заключительная глава подытоживает результаты научной компиляции, опирающиеся на оригинальные разработки автора монографии в области генетики старения и продолжительности жизни. Принципиально то обстоятельство, что вклад автора в эту область вполне адекватен высоте планки притязаний (амбициозности в позитивном звучании), что следует из уровня публикаций и индекса цитирования молодого, но вполне состоявшегося ученого.

С последним обстоятельством связана толерантность автора монографии к термину «антагонизм», в частности в контексте «непримиримых противоречий» репродукции и долгожительства. Рецензенту более импонируют в рассматриваемом контексте термины «альтернативность», «ножницы», «реципрокность» — высвечивающие разные грани дуализма конкурентных — репродуктивной

* См., например: 1) *Gene E. R., Russell D. F., David F. C. Genes and social behavior // Science. 2008. Vol. 322. P. 896–900*; 2) *Zoe R. D., Larry J. Y. Oxytocin, Vasopressin, and the neurogenetics of sociality // Science. 2008. Vol. 322. P. 900–904*; 3) *James H. F., Darren S. Biology, politics, and the emerging science of human nature // Science. 2008. Vol. 322. P. 912–914.*

и продуктивной — стратегий онто- и филогенеза. Очевидной инновацией является функциональная классификация генов продолжительности жизни (с. 50–51). Как и в других отраслях знания, эта новая и достаточно органичная классификация дополняет уже работающие (эволюционную и феноменологическую), обладает потенциалом иного угла зрения на рассматриваемый предмет. Следовательно, характеризуется таким качеством, как эврикомкость. Предложенная классификация является функциональной, минимум, в двух смыслах. Во-первых, потому что стратифицирует гены и продукты их экспрессии в контексте ключевых функций, лимитирующих/потенцирующих продолжительность жизни. А эти ключевые функции, в свою очередь, интегрированы в кластеры шести модальностей. Во-вторых, классификация является функциональной (работающей!), поскольку ненавязчиво ориентирует «классического» генетика на исходный объект исследований — человеческий организм, а также дисциплинирует рамки возможных экстраполяций результатов модельных генетических опытов. Такой намек достигается графой «Гомолог у человека» в табл. 5–8, где охарактеризованы уже идентифицированные гены продолжительности жизни дрожжей, нематоды, дрозофилы и мыши. Как раз вторая ипостась функциональности классификации А. А. Москалёва особенно тешит здоровый медицинский снобизм рецензента.

Феноменологическую классификацию Ричарда Миллера (Miller, 2001) автор дополнил двумя группами генов продолжительности жизни: 1) гены, экспрессия которых изменяется при старении; 2) генетические маркеры старения. Надо полагать, первая из групп — более чем обширна. И это лишь один из эпитетов, намекающих на сегодняшней уровень распознавания грани между «физиологическими», биологическими, адаптивными, возрастными и иными аспектами флюктуаций знака и меры экспрессии генов. Инструмент, который используют сегодня для функциональных интерпретаций всегда уникального, мозаичного и полифоничного паттерна генетической экспрессии — статистические зависимости и корреляции — весьма груб. Наконец, очевидно, что достигнутый уровень понимания грандиозного паттерна экспрессии генов на уровне конкретного органа (как констелляции клеточных элементов паренхимы и особенно — компонентов стромы) и организма в целом — воистину *terra incognita*. Для тех, кто выбирает научный поиск, такой *status quo* — реальный стимул и катализатор. В част-

ности, — для наведения мостов между старением клетки и ее «хозяина» — например, стареющего геронтолога, для которого совершенно ясно только то, что его личный *status quo* — далеко не сумма «агоний» слагающих его клеток. Вторая из кооптированных в классификацию Миллера групп — генетические маркеры старения — привносит позитивное прикладное звучание в сугубо теоретическую конструкцию.

Глава 2, где анализируется современное состояние проблем механизмов клеточного старения, генетической нестабильности и апоптоза, позволяет констатировать существенный прорыв в понимании инволюционных процессов на клеточном уровне. Следовательно, все более проясняются молекулярные мишени, средства и технологии для адресных геропротекторных воздействий на клетку. Глава 3 иллюстрирует первые прецеденты «наведения мостов» между старением клетки и целого организма. «Опорные сваи для моста» в этой главе монтируются с «отчего берега» — эндогенных механизмов. Особые надежды, в этом случае, связываются сегодня с инсулин/*IGF*- и *JNK*-сигналингом, сиртуинами, транскрипционными факторами *DAF-16/FOXO*, липофильными гормонами, системами детоксикации, протеолиза и лизосомальной автофагии. В качестве ремарки отмечу, что термин «детоксификация» (раздел 3.6) несколько смущает, а потому воспринимается в семантическом поле (и семиотическим эквивалентом) привычного термина «детоксикация».

В главе 4, озаглавленной весьма лапидарно (то есть одновременно — кратко и исчерпывающе) — «Старение и стресс», отражено современное положение дел по «наведению мостов» между клеточным и системным старением уже с другого «берега» — с позиций адаптации к «знаковым» факторам внешней среды. В ряду обсуждаемых факторов — пищевой (без учета поллютантов), термический, световой и фактор ионизирующей радиации. Адаптации — как общебиологического феномена, с клишированной канвой сценария и альтернативным финалом каждого акта пьесы — гормезис и витаукт, либо дистресс и старение. Адаптации — как способа сосуществования (именно так!) организма любой степени сложности с внешней средой, то есть со всем окружением, им самим не являющимся. Причем изолированного с момента первого крика и вдоха. Следовательно, это заведомо оборонительное прозябание тревожного и агрессивного существа, принципиально отделенного от этой самой внешней среды... Очевидно,

вторая из сформулированных выше семантических граней адаптации — мировоззренческая — является одной из устойчивых парадигм, на которую, однако, не посягал автор монографии. Интуитивно ощущается, что и этот «молочный зуб» вот-вот уступит свою нишу, поскольку истинная, но абстрактная пока дефиниция — «все связано со всем» — постепенно обретает статус мировоззренческой аксиомы.

В 5-й главе обсуждаются эволюционные теории старения (теории генетического и метаболического компромисса), эволюционная роль *K*- и *r*-стратегий, проблема коэволюции полов в контексте старения и продолжительности жизни. Представляется важным то обстоятельство, что не женский пол как таковой протезирует пролонгацию жизни, но гомогаметность (эффект дозы *X*-сцепленных генов), у птиц и рептилий характерная для самцов, а также факторы полового диморфизма длины теломер и эффективности антиоксидантной защиты.

Наконец, форма монографического труда, как обзорно-аналитической работы, предполагает элемент научной дискуссии. Очевидно, любой про-

дукт человеческой деятельности шифрует существенные черты своего автора. В любом продукте труда вольно или невольно человек выражает самого себя на данном конкретном этапе своего развития — не более и не менее. И в этой своей ипостаси монография тестирует и высвечивает этические навыки автора. В этой связи приятно констатировать его бережное отношение к эпистолярному наследию своих предшественников, корректность формулировок, аргументирующих авторскую позицию. В целом, считаю монографию А. А. Москалёва «Старение и гены» весьма своевременной и исчерпывающей сводкой литературных и собственных данных, результирующей современный статус нашего невежества в области генетики старения и продолжительности жизни. Автор совершенно справедливо резюмирует свой труд: «Тем не менее, зная ответы на некоторые вопросы, мы находимся в самом начале пути». И это — вполне внятная мотивация для потенциальных мастеров и подмастерьев, чей труд и равноценен, и конгениален.

*Канд. мед. наук доцент С. В. Иванов
(Сыктывкар)*

Рецензия на книгу:

Алишев Н. В., Вашкевич А. А., Драбкин Б. А., Николаева Н. А., Шубик В. М. Геронтологические проблемы ветеранов подразделений особого риска. СПб., 2008.

Рецензируемая монография представляет собой уникальное издание, в котором представлены результаты многолетнего изучения состояния здоровья ветеранов подразделений особого риска (ПОР). В этих подразделениях работают испытатели ядерного оружия, участники войсковых учений с применением атомного оружия и ликвидаторы последствий радиационных аварий на атомных подводных лодках. Это те люди, о которых во времена застоя не упоминали в прессе, поскольку сама тема ядерного вооружения нашей страны была засекречена. Можно считать, что данное издание — единственное в своем роде, поскольку в нем впервые приводятся характеристики ядерных испытаний, как на иностранных, так и на отечественных полигонах, а также сведения о местах дислокации ядерных полигонов и о количестве проведенных на них взрывов. Так, например, в нашей стране первые ядерные испытания были проведены еще в 1949 г. на Семипалатинском полигоне, а последние — в 1990 г. на Новой Земле. Рассекреченные данные по США показывают, что 37 из 204 взрывов на полигоне в штате Невада проведены без официальных сообщений. Помимо этих сведений, приведены данные об особенностях ядерных взрывов и радиационных аварий на территории бывшего СССР, описание поражающих факторов ядерного взрыва и медицинские последствия аварий на атомных подводных лодках.

Коллектив авторов представляет подробное описание ряда заболеваний ветеранов ПОР: от сердечно-сосудистых и заболеваний нервной системы до онкологических; при этом за последние 10 лет серьезно изменилась структура болезней. Основное заключение, к которому приходят авторы, — у ветеранов ПОР обнаруживается полипатология. Сотрудниками научно-лечебного центра, которые занимались обследованием ветеранов, были обнаружены признаки раннего старения, в основном у ликвидаторов аварий на атомных подводных лодках. Эта патология выражалась ранним, прогрессирующим атеросклеротическим процессом, снижением адаптивных возможностей, иммунитета, а также увеличением числа сопут-

ствующих заболеваний и осложнений. У ветеранов отмечались также отклонения от нормального уровня хромосомных аберраций (цитогенетическая нестабильность). Такое проявление полипатологий приводило к стойкой утрате трудоспособности. Суммированные результаты длительного и всестороннего обследования позволили специалистам научно-лечебного центра разработать и рекомендовать к применению единую систему лечебно-восстановительной помощи ветеранам ПОР с учетом особенностей течения у них заболеваний.

В отдельную главу авторы выделили результаты изучения психоэмоционального стресса у ветеранов ПОР. Это связано, прежде всего, с тем, что хронические посттравматические стрессовые расстройства встречаются значительно чаще, чем острые, но изучены они гораздо меньше. Другой причиной для специального изучения хронического стресса послужил тот факт, что до настоящего времени особенности нервно-психической адаптации и развития психогенных расстройств у людей в условиях хронического стресса, связанного с последствиями участия в испытаниях ядерного оружия, изучены недостаточно. Всестороннее обследование ветеранов ПОР свидетельствовало о наличии у них существенных изменений в состоянии здоровья — как по жалобам, так и при объективном обследовании. Результаты, в частности, нейрофизиологического исследования показали, что у ликвидаторов спустя десятилетия после аварии в структуре неврологических расстройств преобладают и прогрессируют астенические и неврозоподобные расстройства, обычно сочетающиеся с вегетососудистыми нарушениями. Проявление астенического синдрома характеризуется эмоциональной и вегетативной неустойчивостью, физической и умственной истощаемостью при скудности неврологической симптоматики, что, по мнению авторов, затрудняет диагностику и терапию. В то же время, астенический синдром является одним из основных механизмов развития хронических заболеваний центральной нервной системы.

Среди основных жалоб ветеранов на общее самочувствие были чувство дискомфорта в области

сердца, постоянная общая слабость, головная боль, раздражительность, повышенная конфликтность, нарушение сна и так далее, причем выраженность таких жалоб становилась с каждым годом все больше. Объективная оценка самочувствия выявила наличие, в основном, заболеваний сердечно-сосудистой системы, гипертоническую болезнь и недостаточность кровообращения.

Таким образом, отсутствие выраженной лучевой патологии у ветеранов-ликвидаторов свидетельствует, что основным патогенетическим звеном в расстройстве состояния здоровья является сильное психоэмоциональное перенапряжение, приводящее к расстройству деятельности ЦНС и развитию выраженной сердечно-сосудистой патологии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что существует необходимость своевременной коррекции нарушений функционирования сердечно-сосудистой системы не только у ветеранов ПОР, но и — в качестве рекомендаций — у практически здоровых военнослужащих, находящихся в условиях постоянного психоэмоционального напряжения.

Две главы посвящены изучению биологического возраста (БВ) и ускоренного старения у ликвидаторов последствий радиационных аварий и ускоренному старению иммунной системы у ветеранов ПОР. Авторы приводят несколько определений БВ, трактуя данный показатель как интегральную оценку уровня здоровья ветеранов ПОР и один из критериев эффективности реабилитационных мер. Отмечается также, что определение БВ имеет социально-гигиенический аспект, поскольку позволяет рассматривать вопрос о продлении контракта с военнослужащими, достигшими пенсионного возраста, но имеющими желание работать дальше. В клиническом аспекте, определение БВ является необходимым для объективной оценки эффективности лечебных процедур. Приведенная модель определения БВ выглядит как система оценок ряда показателей и функций организма при использовании линейных и параметрических методов математического анализа. Для унификации оценки и интерпретации разницы между БВ и должным биологическим возрастом (ДБВ), который характеризует популяционный стандарт темпа старения, была предложена шкала функциональных классов БВ. В соответствии с этой шкалой, к I (наилучшему классу БВ) относили обследуемых, темп старения которых, в целом, значительно отстает от популяционного стандарта (от —15 до —9 лет), а в V

(наихудший класс БВ) вошли лица с ускоренным темпом старения, и разница составляла 9—15 лет.

На основании результатов исследований с использованием разработанной модели по определению БВ у большинства ликвидаторов радиационных аварий — военно-морских офицеров и ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС было установлено, что их БВ значительно превышает среднепопуляционный стандарт возраста. Важным дополнением к данным исследованиям был тот факт, что при наблюдаемом увеличении БВ выявлялось смещение большинства показателей у ветеранов и ликвидаторов в сторону худших классов БВ.

Таким образом, разработанная и использованная методика определения БВ позволила сделать вывод о том, что радиационное воздействие относится к факторам, резко увеличивающим БВ и темп старения ликвидаторов последствий радиационных аварий на атомных подводных лодках.

Как известно, существенную роль в старении организма играет изменение системы иммунитета, поэтому в монографии приведены результаты изучения некоторых показателей гуморальной неспецифической защиты, состояния T- и B- системы иммунитета, аутоиммунных изменений гуморального и клеточного типа. В исследовательской работе в качестве пациентов были обследованы не только ветераны ПОР, но и здоровые, а также пожилые люди, страдающие, в основном, сердечно-сосудистыми заболеваниями, данные которых были использованы в качестве контрольных показателей. Проведенное исследование позволило оценить значение выявленных иммунологических изменений в нарушении здоровья у ветеранов ПОР, а также в процессах преждевременного старения. В работе проанализирована связь этих изменений с возрастом, наличием заболеваний и проведена оценка роли радиационного фактора.

Отдельной главой в монографии представлены результаты исследования лечебных свойств препарата «Семакс» при реабилитации ветеранов ПОР. «Семакс» был разработан отечественными учеными под руководством акад. РАМН И. П. Ашмарина и представляет собой аналог адренокортикотропного гормона, не обладающий гормональной активностью. Препарат «Семакс» зарегистрирован в РФ с 1994 г. и рекомендован для широкого применения в качестве лечебно-профилактического средства как стимулятор умственной работоспособности. Дальнейшие клинические испытания препарата показали, что он может быть использован как сред-

ство для повышения адаптационных возможностей организма при лечении синдрома посттравматического стресса, для лечения ряда расстройств при сосудистых поражениях мозга, инсультах, состояниях после черепно-мозговой травмы, после нарушений функции коры головного мозга, для профилактики и лечения расстройств, возникающих после перенесенных стрессовых ситуаций. Логично предположить, что такой широкий спектр лечебных свойств препарата можно использовать для изучения особенностей его действия на состояние здоровья ветеранов ПОР.

Анализ результатов комплексного психофизиологического исследования лечебных свойств препарата «Семакс» до и после курса приема у ветеранов ликвидаторов аварий на атомных подводных лодках подтвердил существующие данные о положительном влиянии препарата на гемодинамику мозга, умственную работоспособность и адаптивные возможности организма к нагрузкам с нервно-психическим напряжением. Авторы отмечают значительное улучшение качества деятельности при выполнении умственных нагрузок, что

свидетельствует о повышении уровня адаптивных возможностей обследованных. В итоге, сделан вывод о том, что препарат «Семакс» может быть использован в качестве лечебно-профилактического средства у ветеранов ПОР с учетом индивидуального подхода к назначению препарата, поскольку эффективность его действия связана с особенностями исходного функционального состояния организма.

В заключение следует отметить, что работа такого большого коллектива авторов является серьезным и весьма актуальным исследованием, поскольку имеет место тенденция к увеличению использования ядерной энергетики в разных отраслях. Представленные результаты анализа состояния здоровья ветеранов ПОР и данные о темпах ускоренного старения являются востребованными и крайне необходимыми в лечебно-профилактической практике. Книга будет интересна врачам-терапевтам, радиобиологам и геронтологам, а также широкому кругу читателей.

Докт. биол. наук И. Г. Попович

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

В данном журнале публикуются обзоры и оригинальные статьи по основным разделам современной геронтологии: биологии старения, клинической геронтологии, социальным и психологическим аспектам, а также истории геронтологии.

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила.

1. Статья должна быть напечатана на одной стороне листа с двойным интервалом между строками с обычными полями. Одновременно необходимо представлять статью на CD-R/CD-RW, набранную в любом текстовом редакторе.

2. Размер статьи не должен превышать 12 страниц, включая список литературы и резюме, обзоров — 20 страниц. Объем обзорных и общетеоретических статей согласовывается с редакцией журнала. Формат текста: шрифт Times New Roman, кегль 12, интервал 1,5. Указатель литературы к статьям не должен превышать $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{10}$ объема статьи. В передовых статьях и обзорах цитируется не более 70 источников.

3. В тексте статьи и списке литературы не должны упоминаться неопубликованные работы, учебники, авторефераты диссертаций и тезисы конференций местного значения. Библиография, как правило, должна содержать литературу, преимущественно, за последние 7 лет.

4. На первой странице должны быть: 1) инициалы и фамилии авторов; 2) название статьи; 3) название учреждения, которое представляет автор(ы); 4) город, где находится учреждение. В конце статьи — обязательно собственноручная подпись каждого автора и полностью имя, отчество, точный почтовый адрес, телефон, адрес электронной почты.

5. Изложение должно быть ясным, сжатым, без длинных исторических введений и повторений. При представлении в печать научных экспериментальных работ авторы должны, руководствуясь «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», указывать вид, количество использованных животных, применявшиеся методы обезболивания и умерщвления животных. Работы, в которых вышеупомянутые данные не приводятся, а также работы, при выполнении которых болезненные процедуры проводились без анестезии, к публикации не принимаются.

6. Статья должна быть тщательным образом проверена автором: химические формулы, таблицы, дозировки, цитаты визируются автором на полях. В носке указывают источник цитаты: наименование публикации, издание, год, том, выпуск, страница. Корректур авторам не высылаются, а вся дальнейшая сверка проводится по авторскому оригиналу.

7. Количество иллюстративного материала (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) должно быть минимальным. Фотографии должны быть контрастными, рисунки — четкими; диаграммы, выполненные в Excel и внедренные в Word, — позволять дальнейшее редактирование. В подписях к микрофотографиям указывают увеличение, метод окраски (или импрегнации) препарата. Если рисунок дан в виде монтажа, фрагменты которого обозначены буквами, обязательно должна быть общая подпись к нему и пояснения к отдельным фрагментам. Место, где в тексте должен быть помещен рисунок, следует отметить квадратом в левом поле; в квадрате ставится номер рисунка.

8. Таблицы должны быть построены наглядно, озаглавлены и пронумерованы. Заголовки таблиц и их номера должны точно соответствовать ссылкам в тексте.

9. Сокращения слов, имен, названий (кроме общепринятых сокращений, мер, физических, химических и

математических величин и терминов) не допускаются. Меры даются по системе СИ.

10. Фамилии отечественных авторов в тексте пишутся обязательно с инициалами, фамилии иностранных авторов в тексте должны быть написаны только в иностранной транскрипции, в квадратных скобках пишутся не фамилии цитируемых авторов и год публикации, а соответствующие номера по списку литературы.

11. В соответствии с ГОСТом 7.1-84, список литературы должен быть оформлен следующим образом:

а) источники располагают в алфавитном порядке авторов (сначала работы отечественных авторов, затем — иностранных). Работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещают среди работ иностранных авторов, а работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке, — среди работ отечественных авторов;

б) если цитируется несколько работ одного автора, их нужно располагать в хронологическом порядке;

в) в статьях, написанных более чем четырьмя авторами, указывают фамилии первых трех из них, а далее ставится «и др.». При четырех авторах указывают всех;

г) для периодических и продолжающихся изданий необходимо указать: автора(ов), полное название статьи, две косые линейки (/), источник в стандартном сокращении, место издания, год, том (при необходимости), номер (выпуск), страницы (обозначаются буквой С.) от и до; все элементы выходных данных отделяют друг от друга точкой;

д) в ссылке на монографию или сборники необходимо указать название публикации, номер издания (если он есть), место и год издания;

е) в монографиях иностранных авторов, изданных на русском языке, после названия книги через знак «:» (двоеточие) указывают, с какого языка сделан перевод;

ж) если заглавие источника состоит из нескольких предложений, все они разделяются знаком «:» (двоеточие);

з) в монографиях и сборниках при наличии двух мест издания приводят оба и отделяют их друг от друга точкой с запятой (М.; Л.);

и) общее количество страниц не указывают.

12. К статье должно быть приложено краткое резюме, отражающее основное содержание работы, размером не более половины страницы, **на русском и английском языках**. Фамилии авторов, название статьи и учреждений даются также на двух языках. Резюме статьи с выносом ключевых слов должно быть помещено непосредственно перед текстом статьи после указания учреждения, которое представляют авторы.

13. Редакция оставляет за собой право сокращения и редактирования присланных статей, а также, с согласия автора, помещения статей в виде рефератов или аннотаций. Для связи с авторами редакция использует электронную почту.

14. Направление в редакцию работ, которые уже напечатаны или посланы для напечатания в других изданиях, не допускается.

15. Рукописи, оформленные не в соответствии с указанными правилами, возвращаются авторам без рассмотрения. Оттиски высылаются авторам по электронной почте в формате pdf.

Статьи направлять по адресу:

197758 Санкт-Петербург, Песочный-2, НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова, проф. В. Н. Анисимову

Невыполнение этих требований удлинит допечатную подготовку текста и ухудшает качество издания.

УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ

2009 • ТОМ 22, № 2

ISSN 1561-9125. Успехи геронтологии, 2009, Т. 22, № 2, 197–378