

МЕЖДУНАРОДНАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ

12-15 апреля 2010 г.
Сыктывкар



ГЕНЕТИКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И СТАРЕНИЯ

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КОМИ НЦ Уро РАН
РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ПРИ РАН
ФОНД «НАУКА ЗА ПРОДЛЕНИЕ ЖИЗНИ»
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ СТАРЕНИЯ
СЫКТЫВКАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
АГЕНТСТВО РЕСПУБЛИКИ КОМИ ПО ФИЗИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЕ,
СПОРТУ И ТУРИЗМУ

МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
**ГЕНЕТИКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ
И СТАРЕНИЯ**

Сыктывкар, 12-15 апреля 2010 г.

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ



PROCEEDINGS

Syktvkar, 12-15 April 2010

GENETICS OF LONGEVITY AND AGING

INTERNATIONAL CONFERENCE

Сыктывкар 2010

УДК 575:613.98(063)

Генетика продолжительности жизни и старения: Материалы докладов Международной конференции. – Сыктывкар, 2010. – 132 с. – (Коми научный центр УрО РАН).

В сборнике опубликованы материалы докладов Международной конференции «Генетика продолжительности жизни и старения», проведенной Институтом биологии Коми НЦ УрО РАН с 12 по 15 апреля 2010 г. Работы посвящены таким перспективным проблемам генетики и геронтологии, как поиск генов долгожительства у модельных объектов и человека, выяснение генетических механизмов влияния на скорость старения факторов внешней среды (качества пищи, светового и температурного режимов, радиации), математическое моделирование процессов старения и условий долголетия, выявление маркеров биологического возраста и негенетических методов вмешательства в процессы старения.

Редколлегия

д.б.н. А.А. Москалев, к.б.н. А.И. Таскаев, к.б.н. М.В. Шапошников



Проведение конференции поддержано Российским фондом фундаментальных исследований. Грант № 10-04-06020-г

ISBN 978-5-89606-426-8

© Институт биологии
Коми НЦ УрО РАН, 2010
© Коми научный центр
Уральского отделения РАН, 2010

ВЫСТУПЛЕНИЕ НА ОТКРЫТИИ КОНФЕРЕНЦИИ

Сыктывкарское отделение геронтологического общества Российской академии наук было создано в декабре 2001 г. при непосредственном участии сотрудников Института биологии Коми НЦ УрО РАН. В Институте ведутся исследовательские работы по поиску новых генов продолжительности жизни у модельного объекта *Drosophila melanogaster*, адаптогенов и геропротекторов, выявлению механизмов влияния факторов окружающей среды (ионизирующей радиации и светового режима) на процессы старения.



Мы очень рады, что Международная конференция «Генетика продолжительности жизни и старения» проводится именно в Сыктывкаре. Для обсуждения проблем старения и увеличения продолжительности жизни собрались более 50 ведущих геронтологов и генетиков из семи стран и 18 городов России, ближнего и дальнего зарубежья. Конференция входит в официальный план мероприятий Российской академии наук на 2010 год.

В программу конференции включен широкий круг вопросов, касающихся изучения наиболее перспективных направлений генетики продолжительности жизни и старения, таких как выявление генов продолжительности жизни у модельных животных, генов долголетия у человека, изучение генетических механизмов влияния на скорость старения факторов внешней среды (диеты, светового и температурного режимов, ионизирующей радиации), математическое моделирование процессов старения и условий долголетия, выявление маркеров биологического возраста и негенетических методов вмешательства в процессы старения.

Конференция призвана подвести итоги многолетнего изучения эколого-генетических аспектов продолжительности жизни в России и за рубежом, а также в стенах нашего Института биологии Коми НЦ УрО РАН; расширить международные научные контакты ученых; помочь разработать совместную программу дальнейших исследований в области генетики старения и долголетия с

целью разработки практических подходов к проблеме старения и получения финансовой поддержки от Международных фондов для их реализации.

Помимо сотрудников группы молекулярной радиобиологии и геронтологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН, организовавших данную конференцию, хочу поблагодарить за помощь в организации конференции:

- руководителю Агентства Республики Коми по физической культуре, спорту и туризму Василия Анатольевича Гончаренко;
- проректора Сыктывкарского государственного университета Алексея Юрьевича Тимофеева;
- заведующую кафедрой теории и методики физической культуры и спорта Сыктывкарского государственного университета Елену Викторовну Гусельникову.

Особые слова благодарности обращены к спонсорам конференции, без которых проведение данного мероприятия было бы невозможно:

- фонду «Наука за продление жизни» и его руководителю Михаилу Александровичу Батину;
- частной исследовательской организации «Институт биологии старения» и его директору Алексею Геннадьевичу Перегудову;
- Литовскому международному фонду «Life Extension Research» и его руководителю Нериусу Альска;
- агентству «Химэксперт»;
- ООО «Рош Диагностика Рус»;
- ООО «Эколайн».

Уверен, что проведение Международной конференции «Генетика продолжительности жизни и старения» позволит расширить сотрудничество наших специалистов с коллегами из других научных центров, повысить качество проводимых нами работ, приведет к появлению новых совместных проектов, результаты которых будут опубликованы в ведущих международных геронтологических и генетических изданиях.

Председатель оргкомитета
А.И. Таскаев

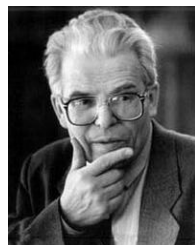
ПРИВЕТСТВЕННОЕ ПИСЬМО В АДРЕС ОРГКОМИТЕТА ОТ АКАДЕМИКА РАН М.П. РОЩЕВСКОГО

Глубокоуважаемые участники первой Международной конференции «Генетика продолжительности жизни и старения»!

В секции физиологии Отделения биологических наук РАН работают два общества – Физиологическое и Геронтологическое. Несмотря на то, что Геронтологическое общество РАН было основано относительно недавно, успехи общества геронтологов очевидны. Прежде всего, это замечательный журнал «Успехи геронтологии», который завоевал за полтора десятка лет научное признание у нас в стране и за рубежом. Физиологи и геронтологи искренне поздравляют проф. Владимира Николаевича Анисимова и чл.-корр. РАН проф. Владимира Хацкелевича Хавинсона с этим блестящим достижением. Создание и столь успешная работа журнала в наше непростое время – настоящий научный подвиг этих ученых. Следует отметить регулярный и весьма информативный выпуск «Вестника Геронтологического общества РАН».

Геронтологическое общество РАН проводит не первую свою конференцию в Сыктывкаре. Не так быстро создавался в Сыктывкаре и союз единомышленников в области физиологической и генетической геронтологии. Очень огорчен, что по независящим от меня обстоятельствам не смогу лично приветствовать участников конференции в нашем городе и заслушать доклады молодых и маститых ученых, собравшихся в Сыктывкаре. Убежден, что успех работы конференции будет обеспечен, коль скоро за ее организацию взялся Анатолий Иванович Таскаев.

Желаю всем участникам конференции успехов в молодой и относительно юной ветви геронтологической науки – генетики продолжительности жизни и старения.



11 апреля 2010 г.

Член Бюро Отделения биологических наук РАН,
советник РАН,
академик М.П. Рощевский

**МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«ГЕНЕТИКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И СТАРЕНИЯ»
(Сыктывкар, 12-15 апреля 2010 г.)**

А.А. Москалев, М.В. Шапошников
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия



В Институте биологии Коми НЦ УрО РАН 12-15 апреля 2010 г. проведена Международная конференция «Генетика продолжительности жизни и старения». Мероприятие организовано Геронтологическим обществом при РАН и Институтом биологии Коми НЦ УрО РАН при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-06020-г), неком-



мерческого фонда «Наука за продление жизни», частной исследовательской организации «Институт биологии старения», Литовского международного некоммерческого фонда «Life extension research foundation», агентства «Химэксперт», ООО «Рош диагностика Рус», ООО «Эколайн».

В конференции приняли очное участие 68 человек, из них 53 иногородних участников, представляющих 35 научных и учебных учреждений. Были представители из семи стран (Россия, Латвия, Литва, Беларусь, Украина, Израиль, Канада) и 19 городов (Бер-Шева, Волгоград, Екатеринбург, Иркутск, Красноярск, Москва, Новосибирск, Пущино, Санкт-Петербург, Уфа, Вильнюс, Минск, Киев, Озерск, Сыктывкар, Рига, Харьков, Чак Ривер). В числе участников три чл.-корр. РАН, два чл.-корр. РАМН, 23 доктора наук, 22 кандидата наук. В работе конференции приняли участие 20 молодых ученых, аспирантов и студентов моложе 35 лет.

В рамках конференции были организованы и проведены пленарные и тематические заседания, а также стендовая сессия по следующим основным направлениям:

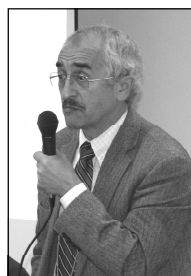
- генетический и эпигенетический контроль продолжительности жизни;
- математическое моделирование и эволюция процессов старения;
- популяционная гетерогенность продолжительности жизни;
- средовые модификаторы старения;
- геропротекторы, адаптогены, биомаркеры старения.

С приветственным словом к участникам конференции обратились Президент Геронтологического общества при РАН В.Н. Анисимов, директор Института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН чл.-корр. РАМН В.Х. Хавинсон, директор Института биологии Коми НЦ УрО РАН А.И. Таскаев, председатель Коми научного центра УрО РАН чл.-корр. РАН А.М. Асхабов. В ходе конференции заслушано 18 пленарных и 26 секционных докладов, проанализировано 11 стендовых сообщений.



А.М. Асхабов

В пленарной лекции «Старение и канцерогенез» проф. В.Н. Анисимов (НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий, Санкт-Петербург) представил доказательства наличия общих механизмов старения и рака на молекулярном, клеточном, тканевом и системном уровнях организма. Сделан вывод о том, что старение сопровождается накоплением инициированных клеток в тканях-мишенях, в результате чего старые животные более чувствительны к опухолевым промоторам. Старение тканеспецифически модифицирует чувствительность к канцерогенам. Антидиабетический бигуанид метформин снижает частоту спонтанных опухолей и увеличивает продолжительность жизни крыс. Искусственное продление длины светового дня вызывает сбой в функционировании клеточных часов, иммунной и нейроэндокринной систем, что приводит к метаболическому синдрому, ускоренному старению и увеличению частоты возникновения рака.



В.Н. Анисимов

В лекции «Пептидергическая регуляция экспрессии генов и увеличения продолжительности жизни» чл.-корр. РАМН В.Х. Хавинсон (Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Санкт-Петербург) рассмотрел возможные механизмы влияния определенных ди-, три- и тетрапептидов на тканеспецифичные процессы и возрастные патологии. Среди таких механизмов особое внимание

уделено увеличению длины теломер и экспрессии генов.

Чл.-корр. РАН Б.Ф. Ванюшин (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва) в пленарной лекции «Эпигенетика – наука XXI века» показал, что степень метилирования ДНК уменьшается с возрастом и, в известной мере, она может служить «биологическими часами», по которым судят о реализации программы онтогенеза и о продолжительности жизни. В то же время метилирование ДНК модулируется антиоксидантами и коррелирует с их геропротекторными свойствами. Нарушение метилирования (дефицит доноров метильных групп, недостаточность фолиевой кислоты, витамина B₁₂ и др.) вызывает преждевременное старение. Однако обратный процесс, суперметилирование ДНК, обуславливает возникновение рака.

Чл.-корр. РАН О.А. Донцова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва) в пленарной лекции рассказала о структуре, функции, регуляции и роли в старении теломер и теломеразы.

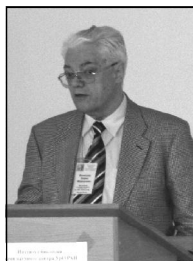
Аспирант А.Г. Королева (Лимнологический институт СО РАН, Иркутск) выявила динамику изменения длины теломерных последовательностей ДНК у некоторых планарий (Plathelminthes, Turbellaria, Tricladida) оз. Байкал, долгоживущие крупные виды характеризовались большей длиной теломер.

Президент биохимического общества при РАН, чл.-корр. РАН А.Г. Габибов (Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва) в пленарной лекции «Аутоиммунные процессы и деградация аутоантигенов» раскрыл свойства каталитических антител и их области применения для лечения заболеваний, в том числе болезней старения.

Чл.-корр. РАМН В.С. Баранов (НИИ акушерства и гинекологии РАМН им. Д.О. Отта, Рос-



В.Х. Хавинсон



Б.Ф. Ванюшин

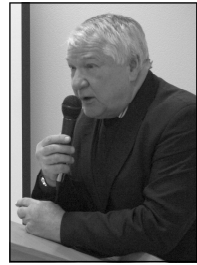


О.А. Донцова



А.Г. Габибов

сийский Центр пренатальной диагностики, Санкт-Петербург) представил пленарный доклад «Геном человека, предиктивная медицина и геномика старения», в котором проиллюстрировал, каким образом идентификация генов и анализ их функций у человека позволяет понять основные молекулярные механизмы старения, разработать новые пути профилактики и лечения болезней старения. В частности, установлена высокодостоверная ассоциация со старением генов *FOXO1A*, *FOXO3A*, *GARDH*, *KL*, *LEPR*, *PON1*, *PSEN*, *SOD2*, *WRN* и более 30 SNP. Рассмотрен метод общегеномного скрининга ассоциаций (GWAS) как качественно новый этап в поисках генов старения и генов – кандидатов возрастзависимых заболеваний.



В.С. Баранов

Д.б.н. О.Е. Мустафина с сотрудниками (Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН, Уфа) выявила ассоциации с возрастом полиморфных локусов генов *ACE*, *PON1*, *CAT*, *SOD2*, *IL6*, *IL10*, *TNFA*, *MSRA*, *SIRT1* и обнаружила их гендерные особенности (у мужчин — *PON1* и *ACE*; у женщин — *TNFA* и *SIRT1*).

Аспирант Т.Ю. Смирнова (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург) осуществила поиск генетических коррелятов, задействованных в обеспечении когнитивных аспектов активного долголетия, на примере ангиотензин-превращающего фермента.

К.б.н. О.С. Глотов (НИИ акушерства и гинекологии ПАМН им. Д.О. Отта, Российский Центр пренатальной диагностики, Санкт-Петербург) в докладе «Спорт, долголетие, гены» рассмотрел ключевые условия, влияющие на долголетие человека – состав и режим питания, физическая активность, стресс, вредные привычки, экология, лекарства. Внешняя среда определяет 70% продолжительности жизни человека. Такие факторы, как избыточный вес и ожирение, курение и отсутствие физической активности сокращают среднюю продолжительность жизни человека на 10 лет.

Профессор В.Э. Фрайфельд (Негевский университет им. Бен-Гуриона, Бер-Шева, Израиль), используя компьютерные данные анализа генетических данных, показал, что у разных модельных видов животных и у человека имеется около 800 генов продолжительности жизни. Было получено распределение продуктов этих генов по функции и внутриклеточной локализации, которое показало, что наиболее представленными оказались ядерные белки и факторы межклеточной передачи сигнала. Между продуктами генов продолжительности жизни наблюдается взаимодействие, что

позволяет организовывать их в так называемые генные сети. Генные сети можно составлять и для различных возрастзависимых заболеваний (рак, атеросклероз, диабет второго типа, болезнь Альцгеймера). Сопоставление генных сетей генов продолжительности жизни и возрастзависимых заболеваний у человека выявило наличие 643 общих генов. Результаты анализа позволили создать онлайн-ресурс, посвященный генным сетям продолжительности жизни, расположенный по адресу <http://netage-project.org>.

В докладе «Существуют ли гены старения?» проф. Е.Г. Пасюкова (Институт молекулярной генетики РАН, Москва) осветила проблему поиска генов продолжительности жизни у модельного объекта дрозофилы. Согласно проведенному исследованию, гены продолжительности жизни организуют сложные сети, опосредующие взаимодействие факторов внешней среды (кислород, температура, пищевые сигналы) и физиологических процессов в различных тканях (клеточное дыхание, сигнальные пути, транскрипция и трансляция, аутофагия, репарация повреждений).

Профессор Л.В. Омелянчук (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск) рассказал о современных инструментах для генетической диссекции функции гена у *Drosophila melanogaster*.

Сотрудники группы молекулярной радиобиологии и геронтологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар) представили цикл работ, посвященных выявлению новых генов продолжительности жизни у дрозофилы. В докладах д.б.н. А.А. Москалева, к.б.н. М.В. Шапошникова, асп. Е.Н. Плюсиной было показано, что сверхэкспрессия генов *UPD*, *PARP-1* и *GADD45* в нервной системе существенно продлевает жизнь особей дрозофил. Асп. О.А. Малышева выявила роль генов *FOXO* и *SIRT2* в увеличении продолжительности жизни при укорочении длины светового дня. Асп. И.О. Велегжанинов показал возрастзависимую динамику изменений показателей генетической стабильности, апоптоза, продолжительности жизни и массы тела самцов и самок мышей, подвергшихся на ранних стадиях развития хроническому облучению ионизирующей радиацией в малых дозах (8 сГр).

Д-р Д.Ю. Клоков (Atomic Energy of Canada Limited AECL Chalk River Laboratory, Canada) в своей работе показал: несмотря на то, что облучение малыми дозами ионизирующих излучений (10 сГр) вызывает адаптивную реакцию, проявляющуюся в повышении выживаемости мышей после острого облучения в большой дозе, индукция репарации двунитевых разрывов ДНК (негомологичного воссоединения концов) не является причиной такого адаптивного ответа. В дальнейшем планируется изучить роль активации иммунных процессов и транскрипционного фактора FOXO.

Д.б.н. Л.Н. Шишкина (Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва) показала, что полевки-экономки, длительное время обитающие в разных радиоэкологических условиях и условиях техногенного радиоактивного загрязнения биоты, проявляют возрастзависимые изменения перекисного окисления липидов. Асп. М.А. Климович из этого же Института выявил возрастные изменения состава фосфолипидов в тканях лабораторных мышей, оказывающие влияние на функциональные характеристики печени.

Профессор А.Н. Хохлов (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) представил данные, свидетельствующие о функциональном старении половых клеток с возрастом индивидуума, обзор методов оценки окислительных повреждений ДНК при клеточном старении, а также результаты, указывающие на геропротекторные свойства веществ, вызывающих мягкое разобщение в процессе митохондриального дыхания.

Профессор Х.К. Мурадян (Институт геронтологии АМН Украины, Киев) обнаружил, что содержание имаго дрозофил в атмосфере умеренной гипоксии и гиперкапнии увеличивает продолжительность жизни и повышает выживаемость при стрессах. Восстановительные атмосферы, в частности, содержащие в небольших количествах водород, аммиак и сероводород, способны продлевать жизнь модельным животным. Д.б.н. А.М. Вайсерман из этого же Института раскрыл понятие гормезиса (стимулирующего эффекта малых доз стрессорных воздействий) и его эпигенетическую природу применительно к увеличению продолжительности жизни.

Д.б.н. Г.В. Оленев (Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург) на примере цикломорфных млекопитающих (мышевидных грызунов), обитающих в условиях дикой природы, выявил два альтернативных типа онтогенетического развития с характерными скоростями старения и продолжительности жизни особей, совместное существование которых обеспечивает максимальную приспособленность популяции как системы и максимальную эффективность ее функционирования в условиях сложной и динамичной среды. При этом бивариантность развития является неспецифическим механизмом популяционной регуляции, основой структурно-функциональных перестроек, обеспечивающих популяции возможность адаптивного «маневра» при изменении условий среды, особенно в критические периоды ее жизни. Сотрудник этого же института к.б.н. Н.Е. Колчева предложила в качестве биомаркера хронологического возраста мышевидных грызунов из природных популяций использовать абразивный износ жевательной поверхности моляров. Она показала, что динамика процессов зимней элиминации зверьков приводит к трансформа-

ции возрастной структуры на разных фазах популяционного цикла: постарение населения в годы низкой численности и омоложение в годы высокой численности.

Д.б.н. Г.В. Беньковская (Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН, Уфа) выявила популяционные механизмы изменения продолжительности жизни имаго *Musca domestica* L. после токсического стресса, такие как наличие субпопуляций особей с разной чувствительностью к стрессу, и динамики плодовитости.

Профессор В.Н. Новосельцев (Институт проблем управления РАН, Москва) провел системный компьютерный анализ калорических ограничений питания у дрозофил, который показал, что первопричиной изменения продолжительности жизни является нарушение энергетического баланса и его последующее восстановление. Анализ показывает, что при нарушении энергетического и компонентного баланса наряду с ожирением ведущую роль играет яйценесение. Сотрудник того же Института к.т.н. А.И. Михальский провел моделирование возрастной реакции на умеренные стрессовые воздействия нематод, показав, что многократный умеренный тепловой шок у данного объекта ведет к снижению величины параметра начальной смертности в кривой Гомпертца и замедляет темп роста смертности с возрастом.

Старший научный сотрудник Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (Москва) А.В. Халявкин в докладе «Средовая модификация генетического потенциала долголетия» доказал, что факторы среды влияют на характер старения и выживания не непосредственно, а сигнально – через регуляторные и управляющие системы организма. Неадекватный набор стимулов окружающей среды может индуцировать состояние неполного самоподдержания организма – его старение. Изучение стареющего организма вне его естественной среды обитания является изучением старения как артефакта влияния неадекватного окружения. Целенаправленная перенастройка параметров управляющих систем способна активировать восстановительный потенциал организма даже в неадекватных внешних условиях.

Доцент кафедры генетики Санкт-Петербургского государственного университета к.б.н. С.В. Мыльников провел оценку наследуемости параметров смертности кривой выживаемости и параметров Гомпертца для модельного объекта дрозофилы.

Профессор С.Л. Стволинский (Научный центр неврологии РАМН, Москва) представил свидетельства геропротекторных свойств дипептида карнозина и его производных.

Профессор Н.Г. Колосова (Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск) выявила положительное действие антиокси-

данта SkQ при возрастных изменениях сетчатки и хрусталика глаза крыс линии OXIS.

Аспирант А.В. Аркадьева (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург) представила результаты исследования действия метформина как геропротектора на фибробластах кожи мышей линии SHR.

Аспирант А.К. Воробьева (Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва) обнаружила, что эфирное масло чабера садового – природный антиоксидант, являющийся эффективным профилактическим средством возрастзависимых изменений на клеточном уровне.

Д.х.н. Л.С. Кочева (Сыктывкарский государственный университет, Сыктывкар) доказала положительные энтеросорбентные свойства гидролизного лигнина для профилактики возрастных заболеваний.

Таким образом, наиболее перспективными векторами развития геронтологии являются поиск генов продолжительности жизни у модельных животных и их полиморфизмов у человека, выявление эпигенетических детерминант и биомаркеров старения, новых геропротекторов и адаптогенов. В связи с успехом данного мероприятия участники конференции предлагают сделать ее регулярной и провести следующую в г. Сыктывкар в апреле 2012 г.



МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ В ЛАБОРАТОРНОЙ ПОПУЛЯЦИИ *MUSCA DOMESTICA* L.

Г.В. Беньковская

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа, Россия; e-mail: bengal2@yandex.ru

Введение

Лабораторная популяция комнатной мухи, производная от линии *Cooper*, в экспериментах по оценке динамики репродукции и смертности имаго проявила высокую степень гетерогенности [1, 2], что позволило выделить методом массового и индивидуального отбора ряд чистых линий и массовых культур, достоверно различающихся по продолжительности жизни имаго.

Малые стрессы, активирующие резервы защитных систем организма, признаны причиной проявления эффектов гормезиса – повышения уровня сопротивляемости стрессовым нагрузкам и, как следствие, продления активного периода жизнедеятельности [5]. Неспецифический характер этого эффекта [3] позволяет предположить существование универсальных адаптивных механизмов, один из которых – изменение интенсивности метаболизма, в том числе ксенобиотиков [6]. Возможности адаптивного ответа, развивающегося в стрессовой ситуации на преимагинальных и имагинальных стадиях развития *M. domestica* L., нам удалось продемонстрировать в эксперименте с личинками и имаго лабораторной популяции и линий, производных от линии *Cooper*.

Материалы и методы

Насекомые. Имаго лабораторной исходной линии *S* (производной от линии *Cooper*, любезно переданной нам проф. С.А. Рославцевой, НИИ дезинфектологии, г. Москва) содержали в капроновых садках 30×30×30 см с металлическим каркасом, корм – сухое молоко. Личинки развивались в пластиковых контейнерах с увлажненными отрубями в стандартных условиях при комнатной температуре (+23-26 °С), освещении с фотопериодом 12:12.

Оценка адаптивного ответа на преимагинальной стадии развития. В этом эксперименте в качестве исходной группы использовали потомство лабораторных линий *M. domestica* L., прошедших на протяжении 35 поколений селекцию на устойчивость к действию пониженной температуры (двухкратная устойчивость), повышенной температуры (пятикратная устойчивость), действию бактериального препарата битоксициллина (БТБ, 13-кратная устойчивость) или малатиона (30-кратная устойчивость). Из каждой линии отбирали равное количество взрослых особей (75), содержали всех отобранных имаго в одном садке. Потомство содержали с условием соблюдения дискретности поколений.

Для эксперимента трехсуточные личинки (объем группы 320 особей) были разделены на контрольную (100 особей) и опытную группы в пятикратной повторности по 20 особей. В качестве регистрируемых показателей учитывали выживаемость до стадии пупария и имаго, массу пупариев, сроки развития до стадии пупария и имаго. В эксперименте оценивали влияние последовательно переносимых на ранних стадиях онтогенеза умеренных стрессовых воздействий. Интенсивность применяемых воздействий в предварительных экспериментах определена на уровне СК₁₆. Использовали четыре последовательных воздействия, интервал между которыми составлял 24 ч: 1) экспозиция при пониженной температуре (+9 °С, 30 мин.); 2) экспозиция при повышенной температуре (+40 °С, 30 мин.); 3) добавление в среду развития БТБ (конечная концентрация 0.011%) и содержание в этой среде 24 ч; 4) добавление в среду развития малатиона (конечная концентрация 0.026%) и содержание личинок в этой среде 24 ч. После завершения каждой из экспозиций отбирали очередную контрольную группу (пять повторностей по 10-12 особей), за которой наблюдали вплоть до вылета имаго. Экспозицию при температурных стрессах осуществляли в предварительно охлажденных или подогретых чашках Петри с влажной фильтровальной бумагой.

Кратковременный контакт имаго с токсикантом. Контактное действие токсиканта (пиперонилбутоксид, водный раствор с концентрацией 0.3М) обеспечивали обработкой стенок садка (1 мл раствора на садок) с 150-200 имаго. Статистическую обработку проводили с использованием критериев Вилкоксона и Стьюдента [4].

Результаты и обсуждение

Эффект ускорения развития на стадии личинки позволил выявить предел способности к адаптивному ответу: второй по счету стрессовый фактор – тепловое воздействие – привел к ускорению развития на двое суток по сравнению с контрольной группой; в

остальных вариантах развитие ускорилося на сутки. Это ускорение во второй опытной группе сопровождалось двухкратным увеличением массы пупариев, однако негативное влияние повышенной температуры сказалось в период формирования имаго, и доля особей, завершивших развитие, в этом варианте лишь на 9% выше, чем в контрольной группе. Использование в качестве третьего по счету стресс-фактора с принципиально отличающимся механизмом действия токсиканта бактериального происхождения доказывает, что резервы адаптивного потенциала лабораторной популяции не исчерпаны. Снятие негативного эффекта действия второго стресс-фактора третьим воздействием привело к снятию чрезмерного ускорения личиночного развития, его полному завершению, повышению массы пупария и восстановлению не отличающейся достоверно от контрольной доли куколок, завершивших развитие.

Существенные различия изменений продолжительности жизни между группами коротко- (*Sh*) и долгоживущих (*L*) особей комнатной мухи, достоверно ($P \geq 0.999$) различающимися по признаку минимальной и максимальной продолжительности жизни поколения, обнаружены в ситуации токсического стресса, вызванного кратковременным контактным воздействием пиперонилбутоксида (ингибитор эстераз) в летальной для имаго *Musca domestica* L. концентрации. Наблюдения за потомками перенесших токсическое воздействие особей показали, что как в исходной, так и в селектируемых по признаку продолжительности жизни линиях проявлялся эффект гормезиса, выраженный в повышении продолжительности жизни имаго, что отмечено на протяжении четырех-пяти поколений. Для комплекса линий *Sh* отмечено достоверное двухкратное увеличение как минимальной, так и максимальной продолжительности жизни имаго в первом поколении, тогда как для комплекса линий *L* достоверно увеличился только максимальный срок продолжительности жизни поколения. Значения коэффициента вариации минимальной продолжительности жизни при проявлении эффекта гормезиса снижались в три раза для линий группы *Sh* и в семь раз – для линий группы *L*. Видимо, снижение размаха изменчивости признака минимальной продолжительности жизни и близость значений для всех тестированных линий (47-49 сут.) означают, что установленный предел увеличения минимальной продолжительности жизни может рассматриваться как ограничение, заложенное в генотипе исходной линии. Повышение размаха изменчивости для значений максимальной продолжительности жизни поколения в ситуации умеренного стресса и проявления эффекта гормезиса, вероятно, следует трактовать как свиде-

тельство адапционного полиморфизма исходной популяции. Использование горметической модели может дать ответ на вопрос об оценке пределов продолжительности жизни, до сих пор остающийся актуальным.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 10-04-01614_a.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Беньковская Г.В.* Стресс-реакция как механизм реализации адаптивного потенциала особей и популяций насекомых. Дис. ... докт. биол. наук. Уфа, 2008. С. 243-250.
2. *Беньковская Г.В., Соколянская М.П.* Чувствительность к тепловому стрессу имаго комнатной мухи из лабораторных линий, селектированных инсектицидами и абиотическими факторами // *Агрохимия*, 2008. № 3. С. 52-57.
3. *Вайсерман А.М.* Геропротекторы: специфическое действие или гормезис? // *Успехи геронтологии*, 2008. Т. 21. № 4. С. 564-569.
4. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. С. 104-130.
5. *Яшин А.И., Романюха А.А., Михальский А.И.* и др. Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины // *Успехи геронтологии*, 2007. Т. 20. № 1. С. 7-19.
6. *Gems D., Partridge L.* Stress-response hormesis and aging: «That which does not kill us makes us stronger» // *Cell Metabolism*, 2008. Vol. 7. P. 200-203.

Possibilities and limitations of life span changes in laboratory experiment

G.V. Benkovskaya

Institute of Biochemistry and Genetics,
Ufa Scientific Centre of Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Results of set of experiments with laboratory strains of *Musca domestica* L. are shown demonstrating high level of polymorphism by sign of fitness as adult's life span (LS) and differentiation in the initial population (strain *Cooper*). Possibility of LS indices extension has been illustrated as hormetic consequence of short-term contact with toxic compound (piperonylbutoxide). Limitations of LS changes have been established defined by species genotype characteristics. Investigations funded partially by RFBR 10-04-01614_a.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У МЫШЕЙ СО СПОНТАННЫМ ЛЕЙКОЗОМ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭФИРНОГО МАСЛА ЧАБЕРА

А.К. Воробьева, Л.Д. Фаткуллина, Т.А. Мишарина, Е.Б. Бурлакова,
М.Б. Теренина, А.Н. Голощапов

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
e-mail: vorobyova.85@mail.ru

Известно, что проживание человека в мегаполисе снижает общую резистентность организма к вирусным и бактериальным инфекциям, ведет к увеличению риска развития многих заболеваний, в том числе и раковых. Поэтому в последние годы наблюдается нарастающий интерес к исследованию влияния натуральных эфирных масел (ЭМ) на биологические объекты. Существуют данные о биологической активности некоторых ЭМ и их антиоксидантных, противовоспалительных и противораковых свойствах [1, 2]. В настоящее время сложно говорить о механизме действия ЭМ *in vivo*, поскольку в большинстве своем вышеупомянутые эффекты обнаружены в экспериментах на модельных системах. Однако, именно выяснение изменений, происходящих в живых организмах, представляет особый интерес. Проведенные ранее в нашем Институте исследования показали, что ежедневное употребление эфирного масла чабера с питьевой водой в количестве около 1 мкг оказывало профилактическое действие на развитие и течение лейкоза у мышей. Так, гибель мышей, получавших масло, началась на 50-60 дней позже, чем в контрольной группе, а средняя продолжительность жизни была в среднем на 20% больше, чем в контрольной группе [3]. Целью данной работы было изучение влияния эфирного масла чабера садового (*Satureja hortensis* L.) на некоторые биохимические характеристики окислительного стресса в организме мышей линии АКР.

Материалы и методы

Самцы мышей высокораковой линии АКР в возрасте трех месяцев (к началу эксперимента) были разделены на две группы. Контрольная группа мышей получала обычную питьевую воду и стандартный лабораторный корм. Мыши опытной группы получали стандартный лабораторный корм и питьевую воду, в которую добавляли эфирное масло чабера садового *Satureja hortensis* L. (Lionel Hitchen Ltd., Великобритания), причем половина животных употребляла его в течение одного месяца, другая половина – трех месяцев. Содержание эфирного масла в питьевой воде состав-

ляло 0.15 мг в 1 л. Эту воду помещали в поилки в достаточном количестве. Каждая мышь за сутки выпивала примерно 2 мл указанного водного раствора, т.е. употребляла около 0.3 мкг эфирного масла чабера.

Для биохимических исследований мышей забивали декапитацией в возрасте четырех и шести месяцев, отбирали кровь, печень и мозг животных. Показатели системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах (степень гемолиза и содержание ТБК активных продуктов) определяли по методу, описанному в работе [4].

Исследование жирнокислотного состава клеток печени и мозга мышей проводили методом газо-жидкостной хроматографии. Липиды гидролизовали, жирные кислоты переводили в метиловые эфиры (МЭЖК), экстрагировали и анализировали на капиллярной кварцевой колонке в режиме программирования температуры. Идентификацию МЭЖК проводили методом хромато-масс-спектрометрии, количественное содержание каждой кислоты определяли нормировкой площадей соответствующих пиков.

Результаты и обсуждение

С химической точки зрения ЭМ представляют собой сложные многокомпонентные смеси углеводов терпенового ряда и их кислородсодержащих производных: спиртов, альдегидов, кетонов, сложных эфиров, фенолов и т.д. Использованное в данной работе ЭМ чабера содержало по 0.5-1.7% монотерпеновых углеводов (α -туйен, α -пинен, камфен, β -пинен, β -мирцен, сабинен, α -фелландрен, α -терпинен), 2.1% р-цимена, 14.8% γ -терпинена, 2.8% борнилацетата, 18.1% тимола, 37.8% карвакрола и 4.0% β -кариофиллена. Высокое содержание тимола, карвакрола и γ -терпинена отвечает за антиоксидантную активность масла [5, 6]. Было установлено, что добавление в корм крысам масла тимьяна (1200 мг на 1 кг веса крыс) повышало общий антиоксидантный статус животных, сохраняло высокий уровень полиненасыщенных жирных кислот в клеточных мембранах в процессе их старения [7, 8]. ЭМ тимьяна и чабера имеют близкий состав основных компонентов, поэтому мы полагали, что масло чабера, который успешно выращивается в средней полосе России, также будет обладать соответствующей биологической активностью.

Для изучения противоопухолевой активности природных веществ удобной моделью является спонтанный лейкоз у мышей высокоракочной линии АКР, у которых лейкоз развивается в 75-100% случаев. Следует отметить, что именно спонтанные лейкозы мышей по происхождению и клиническим проявлениям, сходству

патологических и морфологических особенностей являются наиболее близкими к лейкозам человека [9, 10]. Подробное исследование кинетики развития этого процесса по ряду показателей проведено в работе [11].

Механизм возникновения и развития многих патологических состояний, в том числе роста злокачественных образований, связан с нарушением структуры и свойств биологических мембран, что приводит к изменению процессов мембранного транспорта, системы трансмембранной передачи информации, изменению активности мембранно-связанных ферментов и т.д. Работа системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биомембранах контролирует структуру и функции клеточных мембран [12, 13]. Одним из неблагоприятных последствий ПОЛ считается образование пероксидов жирных кислот, непрерывное накопление которых дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток. Количественной мерой образования пероксидов является содержание продуктов реакции между тиобарбитуровой кислотой и продуктами расщепления пероксидов (ТБК активные продукты). Ранее в эксперименте на лейкозных мышах АКР нами было обнаружено, что введение антиоксидантов, например, фенозана, ингибировало процессы ПОЛ в крови мышей линии АКР [12]. ЭМ чабера также обладает антиоксидантными свойствами, и для более детального исследования его влияния на состояние организма мы определили степень гемолиза и содержание ТБК активных продуктов в эритроцитах, а также жирнокислотный состав клеток печени мышей. Исследования проводились на животных, принимавших ЭМ чабера в течение одного и трех месяцев (возраст мышей четыре и шесть месяцев), т.е. в конце латентного периода и на стадии прогресса опухоли.

На рис. 1 и 2 приведены данные об относительном изменении степени гемолиза и ТБК активных продуктов в эритроцитах мышей, употреблявших ЭМ чабера. Видно, что употребление ЭМ чабера приводило к снижению степени гемолиза и содержания конечных продуктов ПОЛ по сравнению с уровнем параметров у контрольных мышей.

На рис. 3 приведены данные по изменению по отношению к контролю содержания жирных кислот в мозге мышей опытных групп, употреблявших эфирное масло чабера с водой. Как видно, прием эфирного масла снижал уровень насыщенных жирных кислот (НЖК), увеличивал на 22-25% содержание мононенасыщенных (МНЖК) и практически не влиял на содержание полиненасыщенных (ПНЖК) жирных кислот. В результате суммарный индекс ненасыщенности жирных кислот мозга снижался при упо-

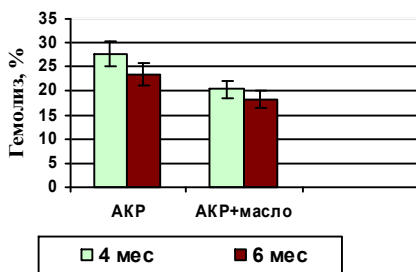


Рис. 1. Изменение степени гемолиза эритроцитов мышей, получавших эфирное масло чабера.

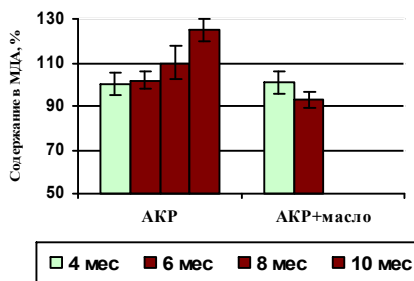


Рис. 2. Изменение содержания МДА в эритроцитах мышей АКР в процессе развития лейкоза и у мышей АКР, получавших эфирное масло чабера.

треблении эфирного масла чабера на 10%, т.е. увеличивалась устойчивость липидов мозга к окислению.

Состав жирных кислот печени также отличался в опытной группе по сравнению с контрольной (рис. 4). Через один месяц употребления эфирного масла (возраст животных четыре месяца) на 10% увеличивалась доля насыщенных и полиненасыщенных ЖК, снижалось содержание мононенасыщенных ЖК. Через три месяца (возраст мышей шесть месяцев) уменьшалось содержание насыщенных и мононенасыщенных ЖК и увеличивалось содержание полиненасыщенных ЖК. Таким образом, в ответ на воздействие малых доз эфирного масла чабера у мышей в печени увеличивался синтез полиненасыщенных ЖК, что говорит о повышении антиоксидантного статуса мышей.

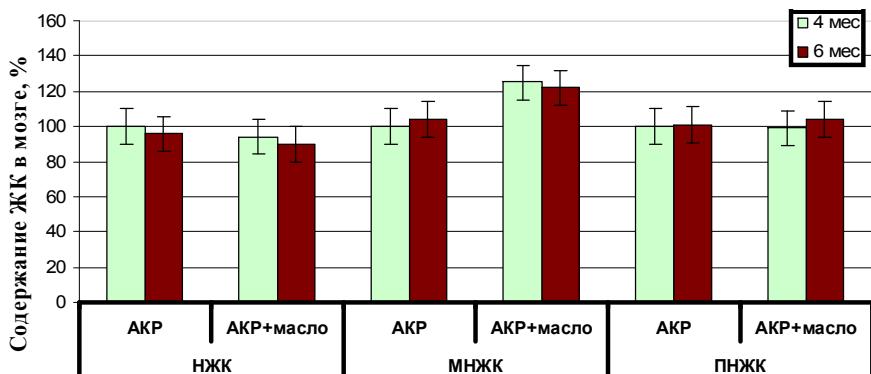


Рис. 3. Изменение содержания жирных кислот в мозге мышей АКР при действии эфирного масла чабера.

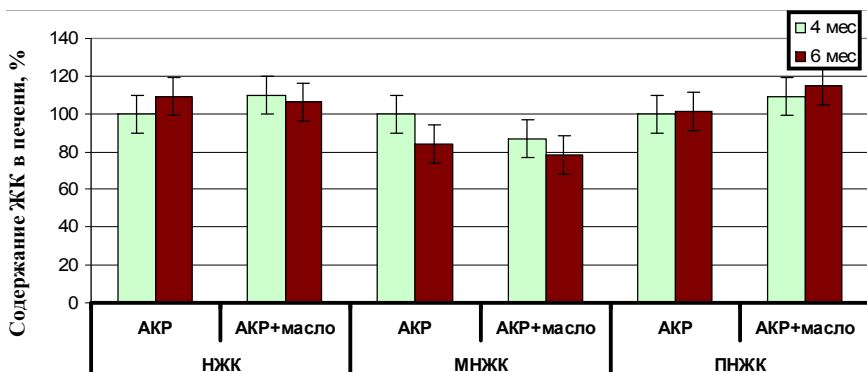


Рис. 4. Изменение содержания жирных кислот в печени мышей АКР при действии эфирного масла чабера.

Заключение

Длительное употребление эфирного масла чабера в малых дозах сопровождалось выраженным биологическим действием: увеличивало продолжительность жизни мышей со спонтанным лейкозом и снижало частоту возникновения лейкозов.

Наши исследования показали, что эфирное масло чабера приводило к изменению параметров окислительного стресса в крови мышей: снижались степень гемолиза эритроцитов и содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах, увеличивалась устойчивость полиненасыщенных жирных кислот к окислению в клетках печени и мозга животных.

Полученные результаты позволяют считать перспективным использование летучих фракций растений, содержащих антиоксиданты (в частности, масло чабера) в малых дозах в лечебных и профилактических целях.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Amr E. Edris*. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 2007. № 21. P. 309-323.
2. *Koroch A.R., Juliani H.R., Zygadlo J.A.* Bioactivity of essential oils and components / *Flavour and Fragrances*. Ed. R.G. Berger. New York: Springer, 2007. P. 87-115.
3. *Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Кременцова А.И., Семенов В.А., Теренина М.Б., Воробьева А.К.* Влияние летучих антиоксидантов растительного происхождения на развитие спонтанного лейкоза у мышей // *Изв. РАН. Сер. Биол.*, 2010. *В печати*.
4. *Банкова В.В.* Роль малонового диальдегида в регуляции перекисного окисления липидов в норме и патологии: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1990. 38 с.

5. Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. Антиоксидантные свойства эфирных масел // Прикладная биохимия и микробиология, 2009. Т. 45. № 6. С. 642-647.

6. Ruberto G., Baratta M. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chem., 2002. Vol. 69. № 1. P. 167-174.

7. Youdim K.A., Deans S.G. Dietary supplementation of thyme oil during the lifetime of the rat: its effects on the antioxidant status in liver, kidney and heart tissues. Mechanisms of Ageing and Development, 1999. Vol. 109. № 3. P. 163-175.

8. Youdim K.A., Deans S.G. Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. British J. Nutr., 2000. Vol. 83. P. 87-93.

9. Кассирский И.А. Введение в клиническую гематологию. М.: Медицина, 1964. 469 с.

10. Бергольц В.М., Румянцев Н.В. Сравнительная патология и этиология лейкоза человека и животных. М.: Медицина, 1966. 291 с.

11. Ерохин В.Н., Бурлакова Е.Б. Спонтанный лейкоз – модель для изучения эффектов малых и сверхмалых доз физических и физико-химических воздействий на опухолевый процесс // Радиационная биология. Радиоэкология, 2003. Т. 43. № 2. С. 237-241.

12. Бурлакова Е.Б. Роль липидов в процессе передачи информации в клетке / Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М.: Наука, 1981. С. 23-25.

13. Бурлакова Е.Б. Предисловие к обзорному номеру // Биологические мембраны, 1998. Т. 15. № 2. С. 117-119.

14. Fatkullina L.D., Goloschapov A.N., Burlakova E.B. Radioprotective effect of antioxidant phenozan on structural state of biomembranes exposed to low radiation doses: Abstr. 35th Annual Meeting of European Radiation Research. Kiev, 2006, P. 86-87.

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ СВЕРХВЫСОКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ПРЕДИМАГИНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ДРОЗОФИЛЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА

О.В. Горенская¹, М.В. Повар¹, А.Б. Гаврилов²

¹ Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина,
г. Харьков, Украина; e-mail: olgavg@bk.ru

² В/ч А0785, г. Харьков, Украина; e-mail: gavanat@mail.ru

Введение

В то время, как живые организмы были окружены электромагнитными полями (ЭМП) естественных источников миллионы лет и в процессе эволюции успели к ним адаптироваться, искусст-

венно созданные, антропогенные ЭМП являются новым фактором окружающей среды и множество различных аспектов действия их на биологические объекты остается не изученными. Оптимальным объектом для исследования такого генетически обусловленного признака, как продолжительность жизни, является дрозофила.

Воздействие ЭМП, как показано многими авторами [6], приводит к угнетению различных адаптивно важных признаков у дрозофилы, однако отмечается и увеличение продолжительности развития особей до стадии куколки после облучения личинок дикого типа дрозофилы электромагнитным полем частотой 10 ГГц на протяжении 3, 4 и 5 ч с получасовыми интервалами [7]. Однако изменение относительной приспособленности в целом и параметров, ее составляющих, при действии малых доз электромагнитного излучения сверхвысоких частот (ЭМИ СВЧ) у трансгенных особей остаются недостаточно изученными.

Таким образом, целью данной работы являлось изучение влияния малых доз ЭМИ СВЧ на показатели продолжительности жизни и длительности предимагинального развития линий *Drosophila melanogaster* с замещенным генотипом.

Материалы и методы

В работе использовалась неселектированная линия дикого типа *Canton-S* (C-S), мутантная линия *black* и линии с замещенным генотипом *white*_{C-S}, *white*^{apricot}_{C-S}, *white*^{satsuma}_{C-S}, *black*_{C-S} (мутации *white*, *white*^{apricot}, *white*^{satsuma}, *black* соответственно перенесены на генетический фон линии дикого типа *Canton-S* путем возвратных насыщающих скрещиваний) *Drosophila melanogaster*. Мух выращивали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре 24 ± 0.5 °C. В качестве объекта воздействия использовали двухчасовые синхронизированные кладки яиц от четырехдневных имаго. Воздействию подвергались кладки на разных стадиях морфогенеза через 120 и 480 мин. после откладки кладывания яиц [9].

Длительность предимагинального развития (в часах) учитывали от момента начала яйцекладки до выхода имаго. Относительная продолжительность жизни особей рассчитывалась как отношение средней или максимальной продолжительности жизни самок и самцов в каждом варианте эксперимента к средней или соответственно максимальной продолжительности жизни самок и самцов в контроле. Среднюю продолжительность жизни рассчитывали как средний возраст, при котором в живых остается 50% исследуемой выборки [10], максимальная продолжительность – средняя продолжительность жизни 10% самых долгоживущих организмов группы [5]. В качестве контроля использовали син-

хронизированные кладки, полученные от мух линий *C-S*, *black*, *white*_{*C-S*}, *white*^{*apricot*}_{*C-S*}, *white*^{*satsuma*}_{*C-S*}, *black*_{*C-S*}, которые развивались на стандартной среде, без внешнего воздействия.

Для получения электромагнитного излучения с заданными характеристиками (частота 37.7 ГГц, плотность потока энергии в точке размещения объекта 10 мкВт/см² (опыты 1 и 3), 100 мкВт/см² (опыт 2)) использовали генератор высокочастотных сигналов Г4-56 и измерительные антенны типа П6-10А и П6-11А. Плотность потока энергии в точке размещения объекта контролировалась ваттметром МЗ-22А [4]. Время воздействия ЭМИ на объект в экспериментах составляло 10 сек. (опыты 2 и 3) и 6 сек. (опыт 1).

Результаты и их обсуждение

Результаты работы показали, что для неселектированной линии дикого типа *Canton-S* и линий с замещенным генотипом *white*_{*C-S*}, *white*^{*apricot*}_{*C-S*}, *white*^{*satsuma*}_{*C-S*} существует общая тенденция при действии СВЧ излучения (опыт 1) – зависимость длительности предимагинального развития от стадии онтогенеза особей, на которой прошло воздействие. При воздействии на сформировавшуюся синцитиальную бластодерму (через 120 мин. от момента откладывания яиц) наблюдается снижение длительности предимагинального развития у самок ($p < 0.001$) всех изученных в работе линий дрозофилы и у самцов линий *white*^{*apricot*}_{*C-S*}, *white*^{*satsuma*}_{*C-S*} ($p < 0.001$). Через 480 мин. от момента откладывания яиц (идут процессы гастрюляции и формирование зародышевой полоски) во всех вариантах эксперимента отмечено увеличение длительности предимагинального развития ($p < 0.05-0.001$), за исключением самок дикого типа, где различия между опытом и контролем не достоверны.

Двухфакторный дисперсионный анализ показал зависимость длительности предимагинального развития как от генотипа $F_{\text{самка}} = 138.9$, $F_{\text{самец}} = 167.1$ и от стадии развития, на которой прошло воздействие изучаемого физического фактора $F_{\text{самка}} = 97.6$, $F_{\text{самец}} = 83.9$, так и от сочетанного действия обоих факторов $F_{\text{самка}} = 14.3$, $F_{\text{самец}} = 10.9$ (для самок и самцов соответственно). При этом сила влияния генотипа составила 20.42 и 24.8%, стадии морфогенеза насекомых – 17.9 и 15.5%, сочетанного действия обоих изучаемых факторов – 9.82 и 7.4% (для самок и самцов соответственно).

Изменения в средней и максимальной относительной продолжительности жизни у мух дикого типа и линий с замещенным генотипом, развившихся из кладок, облученных через 480 мин. после откладывания яиц (опыт 1), показаны в табл. 1.

Таблица 1

Влияние ЭМИ СВЧ на показатели средней и максимальной относительной продолжительности жизни у *Drosophila melanogaster*

Генотип	СГЖ		max ГЖ	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
<i>Canton-S</i>	0.98	1.08	1.05	1.14
<i>white</i> _{C-S}	1.28	0.94	1.16	1.38
<i>white</i> ^{apricot} _{C-S}	1.59	1.20	1.22	1.44
<i>white</i> ^{satsuma} _{C-S}	1.47	1.45	1.27	1.54

Средняя продолжительность жизни мух, развившихся из яиц, облученных через 480 мин. после откладки, превышала контроль у линий с замещенным генотипом на 28.35% (самки линии *white*_{C-S}), 58.65 и 19.47% (соответственно самки и самцы линии *white*^{apricot}_{C-S}), 47.18 и 45.34% (соответственно самки и самцы линии *white*^{satsuma}_{C-S}). Как видно из полученных результатов, самки оказались более чувствительны к внешнему воздействию, чем самцы. Что касается относительных изменений показателя максимальной продолжительности жизни, то увеличение данного показателя в большей степени выражено у самцов линий с замещенным генотипом.

При изучении длительности предимагинального развития в опытах 1 и 2 линия с замещенным генотипом *black*_{Canton-S} также оказалась более чувствительной к внешнему воздействию, чем линии *black* и *Canton-S*, для которых достоверных различий по отношению к уровню контроля не выявлено в обоих вариантах эксперимента.

В опыте 1 отмечено увеличение продолжительности предимагинального развития у самок линии *black*_{Canton-S} на 1.7% ($p < 0.05$), в опыте 2 длительность предимагинального развития возросла на 5.04 и 3.24% ($p < 0.001$) для самок и самцов соответственно. Как видно, самки оказались более чувствительны к СВЧ воздействию, как и самки у линий, мутантных по аллелю *white*, однако изменение в длительности предимагинального развития оказалось не так ярко выраженным. Известно, что пигменты, находящиеся в кутикуле насекомых, поглощают УФ лучи и, тем самым, защищают ткани от повреждения, а также принимают участие в формировании устойчивости у дрозофилы при действии различных патогенов [8]. Можно предположить, что меланины, обуславливающие темный цвет кутикулы у мух мутантной линии *black*, в некоторой степени защищают и от воздействия СВЧ, поскольку наблюдае-

мый эффект выражен у них в меньшей степени, чем у мух дикого типа.

Относительные изменения показателя средней продолжительности жизни дрозофил, развившихся из яиц, облученных ЭМИ СВЧ через 480 мин. после откладки, показаны в табл. 2.

Таблица 2

Влияние ЭМИ СВЧ на показатели средней относительной продолжительности жизни у *Drosophila melanogaster*

Генотип	Варианты опыта	Самки	Самцы
<i>Canton-S</i>	Опыт 1	1.05	1.01
	Опыт 2	0.96	0.97
<i>black</i> _{<i>Canton-S</i>}	Опыт 1	1.14	1.24
	Опыт 2	0.91	1.39
<i>black</i>	Опыт 1	1.05	0.95
	Опыт 2	0.93	1.06

Результаты работы показали увеличение средней продолжительности жизни в опыте 1 по сравнению с контролем во всех вариантах эксперимента, однако достоверная разница наблюдалась только у линии *black*_{*Canton-S*} ($p < 0.05$), при этом средняя продолжительность жизни увеличилась на 14.6 и 23.4% соответственно для самок и самцов. В опыте 2 чувствительны ($p < 0.05$) к внешнему воздействию оказались исключительно самцы линии *black*_{*Canton-S*}, у которых изучаемый показатель вырос на 27.1%.

Известно, что ход постэмбрионального развития дрозофилы до периода формирования пупариума контролируется двумя основными гормонами – 20-ОН-экдизоном и ювенильным гормоном. Эти гормоны действуют как неполные антагонисты и в разные периоды онтогенеза активируют различные паттерны генов, которые закономерно сменяются параллельно со сменой уровня гормонов в гемолимфе. [1]. Таким образом, экдизон инициирует линьку и метаморфоз у дрозофилы, в то время как ювенильный гормон предотвращает преждевременную имагинальную дифференцировку. Кроме того, неспецифическая гормональная стресс-реакция у насекомых связана с изменением уровня этих гормонов [3].

Увеличение длительности предимагинального развития и продолжительности жизни у дрозофилы, показанное в нашей работе, можно объяснить изменениями гормонального баланса в гемолимфе личинок и имаго в сторону уменьшения титра 20-ОН-экдизона. Очевидно, эти изменения опосредованы нарушением регуляции

генной активности, которая вызвана внешним воздействием. Доказательством нашего предположения является и увеличенная по сравнению с контролем на 46% средняя продолжительность жизни у линии *woc* [2]. У личинок третьего возраста, гетерозиготных по гену *woc*, экдизиновый титр составляет 66% от этого же показателя у линии дикого типа.

С другой стороны, позитивно влияет на продолжительность жизни и сверхэкспрессия гена *hsp27* [12], и гена цитоплазматического белка Hsp22 [11] как стресс-ответа у дрозофилы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Жимухев И.Ф.* Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск: Наука, 1994.
2. *Москалев А.А., Шапошников М.В., Зайнуллин В.Г., Пунегов В.В.* Влияние экдизон-содержащих препаратов растительного происхождения на продолжительность жизни линий *Drosophila melanogaster* в зависимости от генотипа // Успехи геронтологии, 2006. Вып. 19. С. 33-35.
3. *Раушенбах И.Ю.* Нейроэндокринная регуляция развития насекомых в условиях стресса. Новосибирск: Наука, 1990. 160 с.
4. *Середній В.П., Огар В.І., Голякова Т.М.* и др. Результати державних приймальних випробувань військового вторинного еталона одиниці потужності електромагнітних коливань у хвилеводних трактах у діапазоні частот від 37.5 ГГц до 78.33 ГГц // Український метрологічний журнал, 2009. № 4. С. 50-55.
5. *Шапошников М.В., Москалев А.А., Турьшьева Е.В.* Влияние индуцированной стерильности и виргинности на продолжительность жизни самок и самцов *Drosophila melanogaster* // Экологическая генетика, 2007. Т. V, № 3. С. 13-18.
6. *Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г.* Влияние микроволнового облучения на биологические объекты // Радиопизика и электроника, 2000. Т. 5, № 1. С. 179-185.
7. *Ati E.* The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the development of *Drosophila melanogaster* / E. Ati, H. Unlu // Int. J. Radiat. Biol., 2006. Vol. 82. № 6. P. 435-441.
8. *Ayres J.S.* A signaling protease required for melanization in drosophila affects resistance and tolerance of infections / J.S. Ayres, D.S. Schneider // PLoS Biol., 2008. Vol. 6. № 12. P. 2764-2773.
9. *Foe V.E., Odell G.M., Edgar B.A.* Mitosis and morphogenesis in the *Drosophila* embryo: Point and counterpoint // Bate, Martinez Arias., 1993. P. 149-300.
10. *Hongyu Ruan, Chun-Fang Wu.* Social interection-mediated lifespan extension of *Drosophila* Cu/Zn superoxide dismutase mutants // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2004. Vol. 125. P. 341-349.
11. *Morrow G., Samson M., Michaud S., Tanguay R.M.* Overexpression of the small mitochondrial Hsp22 extends *Drosophila* span and increases resistance to oxidative stress // FASEB J., 2004. Vol. 18, № 3. – P. 598-599.
12. *Poirier L., Seroude L.* Genetic approaches to study aging in *Drosophila melanogaster* // Age, 2005. Vol. 27. P. 165-182.

Influence of small doses of microwave electromagnetic radiation on duration of preimaginal development and life span of *Drosophila melanogaster* strains depending on the genotype

Gorenskaya O.V.¹, Povar M.V.¹, Gavrilov A.B.²

¹V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

²m/d A0785, Kharkiv, Ukraine

The longevity and duration of preimaginal development stages has been investigated after treatment by small doses of microwave electromagnetic radiation on the eggs on the different stages of morphogenesis. It is shown, that of *Drosophila* depends on the stage of ontogenesis of individuals, which influence passed on, and genotype. Life span of *Drosophila* increases after treatment by small doses of microwave electromagnetic radiation, most sensitive individuals with transgenic genotype, and effect is in a greater degree expressed for females.

ВЛИЯНИЕ КАЛОРИЙНО ОГРАНИЧЕННОГО РАЦИОНА НА БУРУЮ ЖИРОВУЮ ТКАНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

Е.И. Елсукова

Красноярский государственный педагогический университет
им. В.П. Астафьева, г. Красноярск, Россия; e-mail: elsukova@kspu.ru

Диеты с существенным (на 30% и более) ограничением энергетической ценности замедляют темпы раннего и позднего онтогенеза, увеличивая среднюю и максимальную продолжительность жизни, уменьшают спонтанное опухолеобразование, а также рост индуцированных и перевитых опухолей [3]. Предполагается, что в основе этих эффектов – снижение интенсивности энергообмена и вследствие этого снижение продукции свободных радикалов в тканях. Ощутимый вклад в энергообмен мелких млекопитающих вносит термогенез в бурой жировой ткани (БЖТ) [4]. При краткосрочном лишении пищи (24-48 ч) у животных развиваются признаки функциональной атрофии БЖТ. Снижаются базальное и нордреналин-стимулированное дыхание, липолиз, активность цитохромоксидазы, содержание ключевого элемента термогенного механизма – разобщающего белка 1 и его мРНК, связывание с ним пуриновых нуклеотидов [4, 5, 7].

Сведения о БЖТ у животных, получающих более продолжительное время калорийно ограниченный рацион, относительно

малочисленны, неоднозначны, получены почти исключительно на крысах. У крыс Wistar рацион с сокращением энергетической ценности на 40% в период со второго по пятый месяцы жизни приводит к уменьшению массы межлопаточного скопления за счет липидного компонента [10]. У крыс Fisher 344, потребляющих подобный рацион с четвертого по шестой и с четвертого по 26-й месяцы жизни, как абсолютный, так и относительный вес межлопаточной БЖТ был выше, чем в контроле [9]. Термогенез, оцененный по плотности ГДФ связывающих центров митохондрий, был снижен у молодых крыс Wistar после трех недель калорийно ограниченного (на 40%) рациона [8], у нелинейных крыс (*Rattus norvegicus*) подобный рацион увеличивал в БЖТ скорость нефосфорилирующего дыхания [6].

Цель работы состояла в выяснении влияния калорийно ограниченного рациона на бурую жировую ткань мышей.

Методика исследования

Исследование проведено на самцах нелинейных лабораторных мышей, содержащихся в условиях вивария при температуре 23 ± 1 °C. При выполнении исследований руководствовались правилами «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных исследовательских целях» (Страсбург, 1986). Животные получали сбалансированный гранулированный корм ПК-120-1 (BioPro, Новосибирск). В контрольной группе ежедневно определялось потребление корма в расчете на мышшь. В соответствии с этими данными опытной группе корм предоставлялся в количестве 50% от его потребления контрольными мышями. Вызванный ограничением корма дефицит витаминов восполнялся с помощью витаминно-минерального премикса к корму. Доступ животных к воде не ограничивался. Всего проведено два эксперимента продолжительностью три и 20 недель. Возраст мышшей к началу первого эксперимента составил 1.5 мес., к началу второго – 2 мес. По окончании эксперимента животных умерщвляли путем декапитации. Бурю жировую ткань выделяли из межлопаточного скопления.

Интенсивность энергообмена определяли по поглощению кислорода животными при 32 ± 0.5 °C в метаболиметре проточного типа [1]. Содержание ДНК и белка определяли в тканевых гомогенатах. Ткани гомогенизировали в 0.01 М трис-HCl буфере с 0.001 М этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) pH 7.4 при соотношении 30-40 мг ткани в 0.5 мл буфера. Белок определяли по методу Лоури после предварительной солубилизации гомогената раствором, со-

держажим додецилсульфат натрия и NaOH. Для определения ДНК депротеинизированный гомогенат подвергали кислотному гидролизу [1].

Статистическую значимость различий между средними величинами оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Применение калорийно ограниченного рациона приводило к заметному замедлению прироста массы тела животных. В первом эксперименте к концу третьей недели опытные мыши не прибавили в весе, в то время как контрольные за этот период увеличили массу тела на 30%. В конце 20-й недели средний вес в опытной группе увеличился на 30, в контрольной – на 60% по сравнению с началом эксперимента. Различия в массе тела между контрольной и опытной группами были статистически значимы в обоих экспериментах и составили в конце третьей недели 28, в конце 20-й недели – 18% (см. таблицу).

Интегральный показатель интенсивности энергообмена – скорость потребления O_2 – у опытных мышей в первом эксперименте не отличалась от показателя животных, питающихся *ad libitum*, в конце второго эксперимента была выше по сравнению с контролем (см. таблицу). Ранее отмечалось, что такой характер измене-

Влияние калорийно ограниченного рациона на массу тела, энергообмен и бурю жировую ткань мышей

Продолжительность эксперимента	Три недели		20 недель	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Масса тела, г	30.25 ± 0.58 (31)	21.75 ± 0.74* (31)	47.66 ± 2.08 (7)	39.06 ± 1.70** (5)
Скорость потребления O_2 , л/ч·кг ^{0.75}	0.86 ± 0.03 (14)	0.88 ± 0.04 (13)	0.80 ± 0.04 (7)	0.98 ± 0.07 (5)
Масса БЖТ, мг	92.73 ± 4.07 (31)	76.39 ± 5.01** (31)	124.25 ± 19.43 (5)	161.67 ± 10.47 (5)
Масса БЖТ, %	0.305 ± 0.010 (31)	0.335 ± 0.018 (31)	0.248 ± 0.030 (5)	0.378 ± 0.015*** (5)
Белок _{БЖТ} , мкг/мг	50.24 ± 2.81 (16)	53.81 ± 3.70 (15)	89.45 ± 10.03 (5)	101.03 ± 5.60 (5)
ДНК _{БЖТ} , мкг/мг	0.63 ± 0.07 (16)	1.58 ± 0.20* (14)	1.04 ± 0.20 (5)	0.88 ± 0.11 (5)

Примечание. В скобках указано количество экспериментальных животных.

Статистическая значимость различий с контрольной группой: * $p < 0.001$; ** $p < 0.02$, *** $p < 0.05$.

ний скорости потребления O_2 на энергодефицитных диетах обусловлен уменьшением содержания метаболически инертной белой жировой ткани [9]. При препарировании у опытных мышей в обоих экспериментах визуально регистрировалось значительное сокращение депо подкожного и абдоминального жира.

Относительная масса межлопаточной БЖТ (в % к массе тела) к концу третьей недели не различалась между группами животных. Абсолютная масса БЖТ в опытной группе была ниже на 18%, но содержание ДНК (мкг/мг ткани) в ней более чем в два раза превышало этот показатель у контрольных животных.

Во втором эксперименте у мышей, подвергнутых калорийно ограниченному рациону в течение 20 недель, относительная масса БЖТ была на 30% выше, а содержание ДНК в ней не отличалось от нормально питавшихся мышей. В обоих экспериментах содержание в БЖТ белка не различалось между опытной и контрольной группами.

Таким образом, калорийно ограниченный рацион, вызвавший значительную редукцию основных депо белого жира, относительно слабо влиял на массу БЖТ. В первые недели адаптации двукратный рост удельного содержания ДНК в БЖТ при относительно небольшом снижении ее массы обусловлен, очевидно, не только уменьшением размеров клеток из-за интенсивного липолиза, но и интенсификацией процессов клеточной пролиферации. Сохранение высоких функциональных резервов БЖТ у мышей в условиях продолжительного пищевого энергодефицита в наших экспериментах дополнительно подтверждает жизненно важное значение БЖТ для терморегуляции мелких млекопитающих.

В природе в условиях недостаточного питания жизнеспособность поддерживается благодаря продолжительной зимней или летней спячке или периодически возникающему торпидному состоянию. Для выхода из этих процессов необходим быстрый разогрев тела, который и обеспечивает бурая жировая ткань [4]. При этом сформировавшийся в течение недостаточного питания резерв бурых адипоцитов, отвлекая энергоресурсы, может отдавать возрастное развитие инсулинорезистентности, жировую инфильтрацию мышц, печени. У цикломорфных грызунов, возможно, это вносит вклад в замедление старения и увеличение продолжительности жизни поколения животных, рожденных в конце лета и вступивших в размножение после холодного сезона (второй тип онтогенеза) по сравнению с животными, родившимися весной и закончившими свой онтогенез осенью (первый тип онтогенеза) [2].

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Красноярского государственного педагогического университета № 05-10-1/НП.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Медведев Л.Н., Елсукова Е.И.* Влияние естественного перекарма молодняка на бурую жировую ткань // *Онтогенез*, 1999. Т. 30. С. 61-63.
2. *Оленев Г.В.* Альтернативные типы онтогенеза цикломорфных грызунов и их роль в популяционной динамике (экологический анализ) // *Экология*, 2002. № 5. С. 341-350.
3. *Anderson R.M., Weindruch R.* Metabolic reprogramming in dietary restriction // *Interdiscip Top Gerontol.*, 2007. Vol. 35. P. 18-38.
4. *Cannon B., Nedergaard J.* Brown adipose tissue: function and physiological significance // *Physiol. Rev.*, 2004. Vol. 84. P. 277-359.
5. *Gianotti M., Clapes J., Llado I., Palou A.* Effect of 12, 24 and 72 hours fasting in thermogenic parameters of rat brown adipose tissue mitochondrial subpopulations // *Life Sci.*, 1998. Vol. 62. P. 1889-1899.
6. *Lambert A.J., Wang B., Yardley J. et al* The effect of aging and caloric restriction on mitochondrial protein density and oxygen consumption // *Experimental Herontol.*, 2004. Vol. 39. P. 289-295.
7. *Nagashima Y., Ohno T., Ogawa K., Kuroshima A.* Effects of fasting and refeeding on some metabolic characteristics of rat brown adipose tissue // *Jpn. J. Physiol.*, 1995. Vol. 45. P. 645-658.
8. *Rothwell N.J., Stock M.J.* Effect of chronic food restriction on energy balance, thermogenic capacity, and brown-adipose-tissue activity in the rat // *Biosci. Rep.*, 1982. Vol. 2. P. 543-549.
9. *Selman C., Phillips T., Staib J. et al.* Energy expenditure of calorically restricted rats is higher than predicted from their altered body composition // *Mechanisms of Ageing and Development*, 2005. Vol. 126. P. 783-793.
10. *Valle A., Garcia-Palmer F., Oliver J., Roca P.* Sex differences in brown adipose tissue thermogenic features during caloric restriction // *Cell Physiol. and Biochem.*, 2007. Vol. 19. P. 195-204.

Effect of caloric restriction on brown adipose tissue of mice

E.I. Elsuкова

Krasnoyarsk State Pedagogical University him V.P. Astafjev, Krasnoyarsk, Russia

The effect of 50% caloric restriction (CR) for 3 and 20 week on the mass of brown adipose tissue, their content of protein, DNA was studied in male mice. Unlike the drastic reduction of white adipose tissue, the relative mass of interscapular brown fat of CR mice was increased than control at the end of 20 week. DNA content in brown fat (mkg/mg) was doubled in CR mice compared to control at the end of 3 week and was similar for both groups at the end of 20 week.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА ГРЕБНЕЙ ВИНОГРАДА НА МОДЕЛИ ДРОЗОФИЛЫ

В.Н. Зиновьева, В.В. Чернышова, А.А. Спасов

Волгоградский государственный медицинский университет,
г. Волгоград, Россия; e-mail: vzinovjeva@yandex.ru; gilmour@yandex.ru;
farm@interdacom.ru

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* является не только излюбленным объектом классической генетики – на этой модели интенсивно изучается генетический контроль процесса старения, а также ведется поиск новых геропротекторных веществ. Известно, что геропротекторными свойствами обладают некоторые антиоксидантные соединения, что обусловлено их способностью к защите макромолекул от вызванных активными формами кислорода повреждений, которые, согласно свободнорадикальной теории старения, играют важную роль в этом процессе [4]. Антиоксидантные полифенолы, а именно галловая кислота и лютеолин-7-гликозид являются основными компонентами экстракта гребней винограда [1]. В связи с этим вызывает интерес изучение геропротекторных свойств экстракта гребней винограда. В настоящей работе исследовали его влияние на продолжительность жизни самцов плодовой мушки и на их устойчивость к стрессорным воздействиям.

Материал и методы

Экстракт гребней винограда предоставлен ООО «Биохиммаш» (№ сертификата анализа R6BSE-030822). Линия дрозофилы дикого типа (*D*-32) и мутантная линия *y ct* (мутации *yellow* и *cut*), получены из коллекции кафедры генетики МГУ им. М.В. Ломоносова.

Мух разводили при комнатной температуре на корме, содержащем дрожжи (2%), сахар, манную крупу, агар (по 1%), изюм (4%). Самцов отбирали в первые три дня лета мух. Для оценки геропротекторной активности экстракта гребней винограда односуточных самцов инкубировали на корме с экстрактом или без него (корм без изюма, сахар в концентрации 5%). В опытах с самцами дикого типа экстракт испытывали в тех концентрациях (25 мг/мл корма и 50 мг/мл), в которых он, как показано нами ранее, защищает дрозофилу от окислительного стресса, вызванного паракватом или перекисью водорода. В опытах с самцами *y ct* концентрация экстракта составляла 50 мг/мл корма. Каждые пять дней самцов пересаживали на свежий корм. Для ускорения старе-

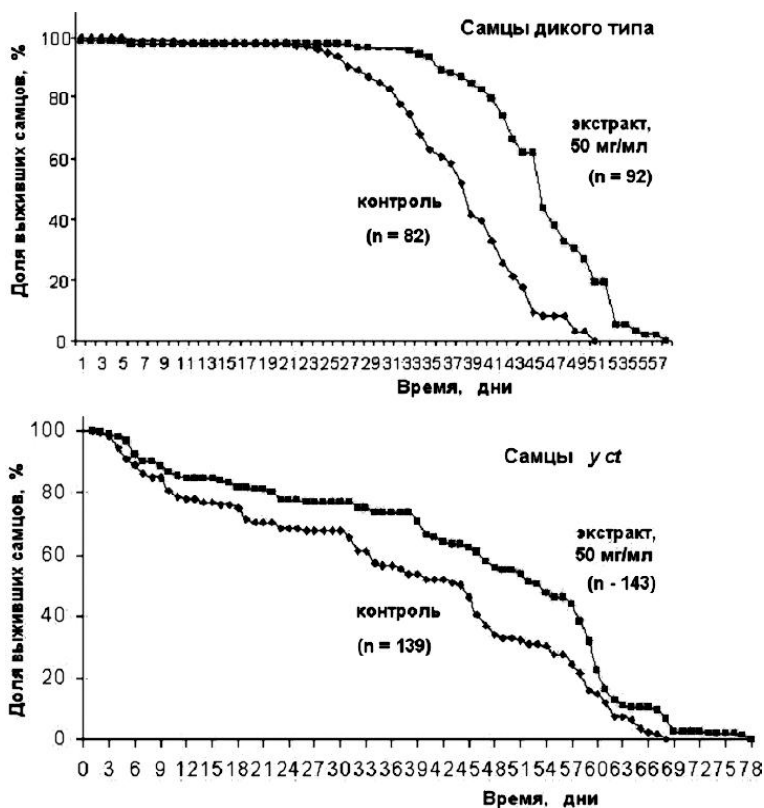
ния самцов дикого типа инкубировали при 28 °С. Самцы *у ct*, имеющие сниженную жизнеспособность, содержались при комнатной температуре. Ежедневно до гибели последнего самца учитывали количество погибших особей.

Для оценки влияния экстракта гребней винограда на устойчивость к стрессам самцов дикого типа содержали в течение четырех недель при 28 °С на корме с экстрактом (50 мг/мл) или без него. При проведении холодового шока самцов в пустых пробирках инкубировали при -4 °С в течение 90 мин. Затем их переносили на свежий корм и через трое суток содержания при 28 °С определяли выживаемость. Тепловой нелетальный шок проводили, инкубируя самцов в пробирках с фильтровальной бумагой, смоченной дистиллированной водой, при 37 °С в течение 45 мин. Эту процедуру повторяли два раза в неделю на протяжении двух недель. В промежутках между процедурами и до полной гибели самцов их содержали при 28 °С, ежедневно регистрируя количество погибших особей, а через пять дней пересаживая самцов на свежий корм. Для оценки выживаемости в условиях голодания самцов помещали в пробирки с 1% -ным агаром, дважды в день до гибели последнего самца фиксировали количество погибших особей. Достоверность различия между контролем и опытными вариантами определяли, используя *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При старении на физиологическом, клеточном и молекулярном уровнях происходят характерные изменения, которые могут служить биомаркерами этого процесса. Наиболее точным критерием скорости старения, однако, остается продолжительность жизни организма. Содержание дрозофилы на корме с экстрактом гребней винограда (50 мг/мл) приводит к возрастанию максимальной продолжительности жизни как самцов дикого типа, так и самцов *у ct* (см. рисунок).

Средняя продолжительность жизни самцов дикого типа по сравнению с контролем при этом увеличивается на 20.8, самцов *у ct* – на 23.2% (табл. 1). Кроме того, сроки 50% - и 90% -ной гибели самцов дикого типа статистически значимо превышают контрольные значения (45.3 ± 1.2 и 54.9 ± 2.1 против 36.3 ± 3.7 и 45.2 ± 4.42 дней в контроле; $p < 0.05$). При концентрации экстракта 25 мг/мл гибель всех самцов дикого типа наступает позже, чем в контроле (данные не представлены), а увеличение средней продолжительности жизни составляет 12.1% (табл. 1). Экстракт гребней винограда оказывает, таким образом, геропротекторное действие в отношении самцов дрозофилы обеих линий, а его эф-



Влияние экстракта гребней винограда на выживаемость самцов.

эффективность зависит от концентрации и сопоставима с эффективностью других геропротекторов. Так, катехины зеленого чая увеличивали среднюю продолжительность жизни дрозофилы на 16% [5].

Дрозофила является удобным объектом для выявления геропротекторной активности вещества по его действию на характеризующие старение параметры (локомоторная активность, способность к обучению, накопление в тканях липофусцина, устойчивость к стрессам). Устойчивость к трем видам стресса – холодовому шоку, тепловому нелетальному шоку и голоданию – мы использовали в качестве биомаркеров старения. Как видно из табл. 2, экстракт гребней винограда в концентрации 50 мг/мл статисти-

Таблица 1

**Влияние экстракта гребней винограда
на продолжительность жизни самцов**

Линия	Средняя продолжительность жизни (дни)					
	Дикий тип		Дикий тип		уст	
Экстракт, мг/мл	0	25	0	50	0	50
	37.0 ± 1.2	41.5 ± 1.4*	36.6 ± 0.7	44.2 ± 0.9*	36.9 ± 3.2	45.5 ± 2.7*

* Здесь и в табл. 2 различие статистически значимо ($p < 0.05$).

Таблица 2

Влияние экстракта на устойчивость самцов дикого типа к стрессам

Экстракт мг/мл	Холодовой шок	Голодание		Тепловой нелетальный шок	
	Доля выживших особей (%)	Доля погибших особей (%) через		Срок 50%-ной гибели (дни)	Срок 90%-ной гибели (дни)
		45 часов	80 часов		
0	22.4 ± 6.3	31.0 ± 4.1	86.0 ± 3.1	9.9 ± 1.4	13.4 ± 0.7
50	73.8 ± 7.4*	10.2 ± 2.3*	55.3 ± 4.8*	19.7 ± 0.6*	22.3 ± 0.9*

чески значимо повышает по сравнению с контролем долю самцов дикого типа, выживших при воздействии холода. При голодании скорость гибели самцов в опыте была достоверно ниже, чем в контроле. Под влиянием экстракта возросли также сроки 50% - и 90% -ной гибели самцов после теплового нелетального шока. Эти данные свидетельствуют об уменьшении биологического возраста самцов при воздействии экстракта. Таким образом, экстракт гребней винограда оказывает позитивное влияние не только на продолжительность жизни самцов дрозофилы, но и на их устойчивость к стрессам.

В основе действия геропротекторов могут лежать несколько механизмов. Катехины чая и экстракт брокколи, например, усиливают экспрессию генов антиоксидантных ферментов [5, 6]. За активацию этих генов, а также генов ферментов детоксификации, имеющих в регуляторных районах элементы ARE, отвечает, как известно, транскрипционный фактор Nrf2, обычно связанный с цитоплазматическим белком Keap1 [9]. Перенос фактора Nrf2 в ядро происходит благодаря модификации белка Keap1 электрофильными соединениями чая и капустных растений. Можно предположить, что экстракт гребней винограда активизирует гены, содержащие элементы ARE, поскольку галловая кислота является индуктором фактора Nrf2 [11], а лютеолин тоже способен к индукции антиоксидантных ферментов [8].

Среди других механизмов действия геропротекторов – имитация ограничения калорийности пищи, которое замедляет старение многих организмов. Так действует ресвератрол, активируя белки сиртуины, модулирующие хроматин и влияющие на транскрипционный фактор FOXO [2]. Под контролем фактора FOXO находятся, как известно, гены, которые обеспечивают устойчивость к стрессам и кодируют, в частности, белки теплового шока (БТШ) [3]. Видимо по этой причине полифенолы черники и антиоксиданты коричника китайского, индуцирующие синтез БТШ, одновременно с увеличением продолжительности жизни повышают устойчивость к стрессам [10, 12]. Не исключено, что геропротекторный эффект экстракта гребней винограда также обусловлен активацией генов БТШ. В этом случае, принимая во внимание, что устойчивость к стрессам развивается после слабых стрессорных воздействий (явление гормезиса) [7], компоненты экстракта, возможно, играют роль ксеногорметиков и вызывают слабый окислительный стресс, так как антиоксиданты в определенных условиях могут оказывать прооксидантные эффекты. Воздействие на чувствительные к окислению транскрипционные факторы и протеинкиназы сигнальных клеточных путей может приводить к индукции антиоксидантных ферментов и других защитных систем, повышающих адаптивные свойства организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Еремина А.В., Решетняк М.О. Определение полифенольного состава сухого экстракта гребней винограда методом ВЭЖХ // Химико-фармацевтический журнал, 2004. № 3. С. 92-95.
2. Allard J.S., Perez E., Zou S., de Cabo R. Dietary activators of Sirt1 // Mol Cell Endocrinol., 2009. № 1. P. 58-63.
3. Hao X., Zhang S., Timakov B., Zhang P. The *Hsp27* gene is not required for *Drosophila* development but its activity is associated with starvation resistance // Cell stress & chaperones, 2007. № 4. P. 364-372.
4. Harman D. Free radical theory of aging: an update increasing the functional life span // Ann. N.Y. Acad. Sci., 2006. № 1067. P. 1-12.
5. Li Y.M., Chan H.Y., Huang Y., Chen Z.Y. Green tea catechins upregulate superoxide dismutase and catalase in fruit flies // Mol. Nutr. Food Res., 2007. № 5. P. 546-554.
6. Li Y.M., Chan H.Y., Yao X.Q. et al. Green tea catechins and broccoli reduce fat-induced mortality in *Drosophila melanogaster* // J. Nutr. Biochem., 2008. № 6. P. 376-383.
7. Marques F.Z., Markus M.A., Morris B.J. Hormesis as a pro-healthy aging intervention in human beings? // Dose-Response, 2010. Vol. 8. P. 28-33.
8. Seelinger G., Merfort I., Wolfle U., Schempp C.M. Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin // Molecules, 2008. Vol. 13. P. 2628-2651.

9. *Son T.G., Camandola S., Mattson M.P.* Hormetic dietary phytochemicals // *Neuromolecular Med.*, 2008. № 4. P. 236-246.
10. *Wilson M.A., Shukitt-Hale B., Kalt W.* et al. Blueberry polyphenols increase life span and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans* // *Aging Cell.*, 2006. Vol. 5. P. 59-68.
11. *Yeh C.T., Yen G.C.* of hepatic antioxidant enzymes by phenolic acids in rats is accompanied by increased levels of multidrug resistance-associated protein 3 mRNA expression // *J. Nutr.*, 2006. Vol. 136. P. 11-15.
12. *Yu Y.-B., Dosanjh L., Lao L.* et al. *Cinnamomum cassia* bark in two herbal formulas increases life span in *Caenorhabditis elegans* via insulin signaling and stress response pathways // *PLoS ONE*, 2010. № 2. e9339.

Study of geroprotective capacity of grape crests extract on *Drosophila*

Zinov'eva V.N., Chernyshova V.V., Spasov A.A.
Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

In experiments with *drosophila* we found that grape crests extract has geroprotective activity. Extract extends life span of fly males and increases resistance of them to cold shock, to starvation, and to heat nonlethal shock. We suggest that grape crests extract antioxidants play xenohormetic role by activation adaptive genes of *drosophila*.

ЭНТЕРОСОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗНОГО ЛИГНИНА

А.П. Карманов¹, Л.С. Кочева², М.Ф. Борисенков³, М.В. Миронов⁴,
И.Н. Полина⁴, Т.А. Прудова¹, Ю.А. Карманова²

¹ Институт химии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, Россия;
e-mail: apk.chemi@ksc.komisc.ru

² Сыктывкарский государственный университет, г. Сыктывкар, Россия;
e-mail: karko_07@mail.ru

³ Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, Россия;
e-mail: borisenkov@physiol.komisc.ru

⁴ Сыктывкарский песной институт, г. Сыктывкар, Россия;
e-mail: apk.chemi@ksc.komisc.ru

Гидролизный лигнин (ГЛ) – крупнотоннажный отход гидролизной промышленности – в последнее время находит все большее практическое применение. В частности, на его основе получают высокоэффективные энтеросорбенты – полифепаны (*Polyphapanum*) и полифаны (*Polyphanum*).

Гидролизные лигнины, как и сорбенты на их основе, представляют собой сложный комплекс химических соединений раз-

личных классов. Кроме негидролизуемого остатка – собственно лигнина, они содержат органические кислоты, олигосахара, легко- и трудногидролизуемые полисахариды, смолы, жиры, фенольные соединения, а также остаточную серную кислоту [1]. Состав гидролизного лигнина в общем случае малопредсказуем и может меняться в зависимости от состава исходного растительного сырья. Так, при гидролизе хвойной древесины образуется продукт, содержащий наибольшее количество смолистых веществ, тогда как при гидролизе лиственной древесины и сельскохозяйственных отходов смолистых веществ в составе лигнина достаточно мало. Содержание золы также может значительно колебаться. Лигнины из соломы могут содержать до 10-15%, из древесины – 1-3% золы. Количество полисахаридов в ГЛ в значительной мере зависит от способа гидролиза, режима процесса, концентрации кислоты, температуры реакции, времени гидролиза и ряда других факторов (табл. 1). Медицинские энтеросорбенты по химическому составу, безусловно, более чистые, чем исходные гидролизные лигнины, в частности, в них отсутствует остаточная кислота, существенно меньше зольных и смолистых веществ, хотя количество основных компонентов предопределяется исходным сырьем.

Цель данной работы – изучение взаимосвязи между количеством основных компонентов (лигнина и целлюлозы) и сорбционными характеристиками медицинских энтеросорбентов на основе гидролизного лигнина.

Объекты исследования – различные образцы полифанов ООО СТИ «Медсорб» (обозначены номерами от 1 до 13) и аптечные лекарственные лигнины, произведенные на следующих предприятиях: ООО «Экосфера» (г. Великий Новгород) – № 14, «Сайнтек» (г. Санкт-Петербург) – № 15 и 17, ООО «Био-Тон» (г. Москва) – № 16.

Таблица 1

**Химический состав гидролизных лигнинов
из древесины и сельскохозяйственных отходов**

Показатель	Лигнин древесины, %	Лигнин сельскохозяйственных растений, %
Лигнин	48.3-72.0	38.9-87.5
Полисахариды	12.6-31.9	3.1-45.2
Смолистые вещества	7.6-19.1	5.4-8.3
Редуцирующие вещества	1.1-10.0	0.1-9.6
Зольность	0.7-9.6	0.5-10.9
H ₂ SO ₄	0.4-2.4	0.6-1.3

Компонентный состав определен по известным методикам, принятым в химии древесины: целлюлозу определяли по Кюршнеру, лигнин – по Комарову. Сорбционную способность (СС) определяли по стандартной методике с метиленовым синим.

На рис. 1 представлены результаты определения лигнина Комарова в препаратах медицинских лигнинов. Из полученных данных следует, что содержание лигнина в препаратах полифанов варьирует в довольно широких пределах – от 70 (№ 3) до 90% (препараты № 6 и 8). Еще меньше содержание лигнина в медицинских лигнинах № 14-17, что обусловлено наличием в них определенных добавок (крахмал, лактоза, сахароза).

На рис. 2 представлена зависимость сорбционной способности от количества лигнина в медицинских лигнинах. Как видно из представленного графика, наблюдается значительный разброс точек, означающий наличие сложной зависимости СС препаратов от содержания лигнина. Для решения задачи о выявлении взаимосвязи между различными величинами применяется математический анализ данных, который позволяет установить количественные характеристики тесноты корреляционной связи. Считается, что корреляционный анализ может раскрыть суть физико-химических зависимостей между различными параметрами.

В первую очередь нами проверялась статистическая гипотеза линейности связи между «случайными» переменными, имеющими нормальное распределение. Методом наименьших квадратов находили параметры прямой линии регрессии (уравнения регрессии), стандартные отклонения этих параметров, ошибку аппрок-

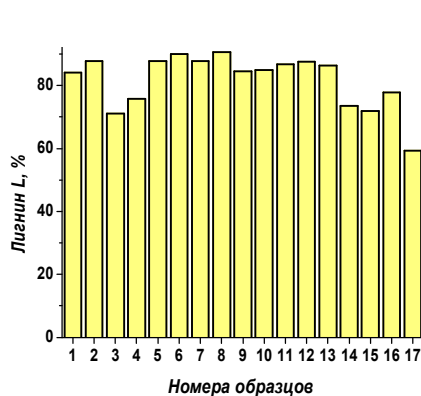


Рис. 1. Содержание лигнина в образцах медицинских лигнинов.

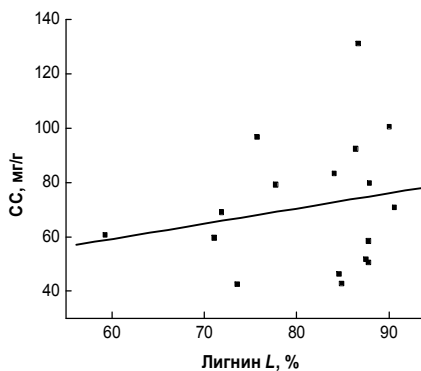


Рис. 2. Зависимость СС препаратов от содержания в них лигнина L (лигнин Комарова).

симации и рассчитывали выборочный коэффициент корреляции. В результате математического анализа было установлено, что взаимосвязь между содержанием лигнина и сорбционной способностью препаратов можно представить в виде уравнения прямой:

$$y = 25.4 + 0.56x,$$

где y – сорбционная способность СС, x – содержание лигнина, %.

Параметры уравнения регрессии $y = ax + b$, коэффициент корреляции R и стандартная погрешность S_D представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Коэффициенты линейной корреляции
и среднеквадратичная погрешность S_D для соотношений $y = a + bx$,
связывающих сорбционную способность
и содержание основных компонентов энтеросорбентов**

Соотношение	a	Δa	b	Δb	R	S_D
СС-лигнин	25.4	57.9	0.56	8.7	0.20	24.4
СС-целлюлоза	48.8	55.0	1.6	3.8	0.11	24.8

Из этих данных можно сделать вывод о положительной корреляции параметров, однако значение R указывает на слабую корреляцию. Не исключено, что в данном случае следует отвергнуть линейную связь, но это не означает, что отсутствует корреляция другой формы. Объективная оценка гипотезы о наличии корреляции требует достаточно большой выборки. Кроме того, на результаты влияют не только процесс измерения параметра L , но и ошибки измерения величины СС. Тем не менее, учитывая общие представления об изучаемом явлении и физико-химии процессов сорбции, можно утверждать, что повышение содержания лигнина в медицинских препаратах положительно влияет на их сорбционную способность и, соответственно, качество препаратов.

Целлюлоза относится к числу обязательных компонентов гидролизных лигнинов и, соответственно, медицинских энтеросорбентов на их основе. Содержание целлюлозы в гидролизных лигнинах зависит от целого ряда факторов (способа гидролиза, исходного сырья, параметров гидролитической обработки, способов подготовки и очистки препаратов) и колеблется обычно в пределах от 10 до 20%.

Установлено, что сорбционные свойства медицинских лигнинов, в частности, в отношении микробных культур [2], однозначно зависят от содержания целлюлозы. Например, при содержании целлюлозы 12.6% сорбция клеток *E. coli* составляет около 790 млн./г; при содержании целлюлозы 20% величина сорбции может уменьшиться до 700 и даже 550 млн./г. Наличие целлюлозы

снижает также сорбционную способность препаратов медицинских лигнинов в отношении ионов тяжелых токсичных металлов, в том числе свинца, меди и кадмия. В связи с этим оценка препаратов по содержанию целлюлозы обязательна, особенно при разработке критериев качества энтеросорбентов.

На рис. 3 представлены данные о содержании целлюлозы Кюршнера в препаратах энтеросорбентов, из которых следует, что максимальное количество целлюлозы может достигать ~19%. Наименьшее количество целлюлозы установлено в препарате № 16 – 11.9%. Сопоставление сорбционной способности препаратов с количественным содержанием в них целлюлозы позволяет дать ответ на вопрос о влиянии целлюлозы на качественные показатели энтеросорбентов.

В результате было установлено, что взаимосвязь между содержанием целлюлозы (рис. 4) и сорбционной способностью препаратов можно представить в виде уравнения прямой:

$$y = 48.8 + 1.6x,$$

где y – сорбционная способность, x – содержание целлюлозы, %.

Как следует из данных, представленных в табл. 2, значения коэффициента корреляции свидетельствуют о практической независимости показателя сорбции метиленовой сини от процентного содержания целлюлозы в препаратах медицинских лигнинов.

Заключение

Проведена оценка содержания основных компонентов – лигнина и целлюлозы – в препаратах энтеросорбентов на основе гидролизного лигнина. Показано, что содержание собственно лигни-

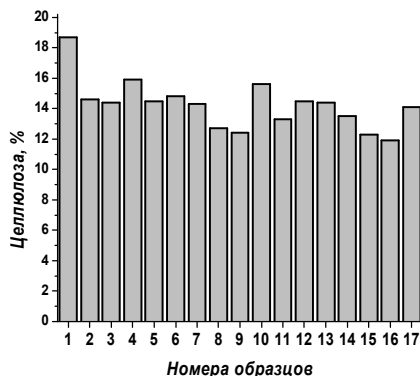


Рис. 3. Содержание целлюлозы в образцах медицинских лигнинов.

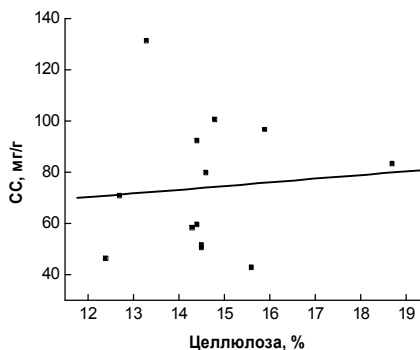


Рис. 4. Зависимость СС препаратов от содержания в них целлюлозы.

на колеблется в интервале от 70 до 90%. Повышение количества лигнина оказывает положительное влияние на сорбционную способность энтеросорбентов. Установлено, что содержание целлюлозы в препаратах неодинаково и варьирует в пределах от 11 до 19%. Получены данные, свидетельствующие о независимости сорбционной способности энтеросорбентов от процентного содержания в них целлюлозы. Проведенное исследование является необходимым этапом для решения проблемы стандартизации энтеросорбентов на основе технических лигнинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чудаков М.И. Промышленное использование лигнина. М.: Лесная пром-сть, 1983. 200 с.
2. Леванова В.П. Лечебный лигнин. СПб.: Центр сорбционных технологий, 1992. 136 с.

Enterosorbents on basis of lignin hydrolised

A.P. Karmanov¹, L.S. Kocheva², M.F. Borisenkov³, M.V. Mironov^{3, 4}, I.N. Polina⁴,
T.A. Prudova¹, Yu.A. Karmanova²

¹ Institute of Chemistry, Komi SC UD RAS, Syktyvkar, Russia

² Syktyvkar State university, Syktyvkar, Russia

³ Institute of Physiology, Komi SC UD RAS, Syktyvkar, Russia

⁴ Syktyvkar Forest institute, Syktyvkar, Russia

The results of investigation of enterosorbents on basis of lignin hydrolised – medical lignins *Polyphapanum* and *Polyphanum* are presented. Content of basic components in different enterosorbent preparations was determined. Relationship between quantitative content of lignin and cellulose and sorption characteristics of medical lignins was studied. Findings imports for the problem solving of enterosorbents on basis of lignin hydrolised regularizing.

СОПРЯЖЕННЫЙ С РАЗВИТИЕМ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ РЕПАРАЦИИ ВОЗРАСТНЫХ НАРУШЕНИЙ

О.В. Квитко

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь;

e-mail: o.kvitko@iqc.bas-net.by

В наиболее общем виде причина биологического старения понятна. Этот процесс является результатом неполной репарации стохастических (спонтанных и индуцированных стрессами) струк-

турных и функциональных нарушений на всех уровнях организма, начиная с молекулярного. Но в чем причина этой неполноты? Именно данный вопрос целесообразно считать основным в биogerонтологии. Для ответа на него в первую очередь следует обратить особое внимание на огромную межвидовую вариацию продолжительности жизни, включая феномен видов с пренебрежимо медленным старением (*negligible senescence*). Ведь резкие контрасты в продолжительности жизни разных видов могут быть обусловлены яркими различиями в эффективности восстановления нарушений. Однако к настоящему времени значительные успехи достигнуты только в понимании детерминации относительно небольших колебаний срока жизни индивидуумов в пределах вида. В то же время механизмы, являющиеся основой на порядки более масштабного межвидового диапазона долговечности, практически не изучены. Применив метафору, можно сказать, что исследователи пока заняты анализом травинки у себя под ногами, не замечая деревьев над головой.

Такая ситуация обусловлена тем, что для изучения внутривидовой вариации темпов старения применим экспериментальный подход, основанный на поиске и анализе работы генов, мутации в которых влияют на темп старения. Замедляющие старение и продлевающие жизнь мутации часто повышают резистентность к стрессам, обусловленную усилением ряда процессов, включая антиоксидантную защиту, деградацию поврежденных белков с помощью шаперонов и репарацию ДНК. Важен вывод об эволюционном консерватизме геронтогенов. Например, инсулиноподобный сигналинг у млекопитающих в целом сходен с регуляцией метаболизма глюкозы у дрожжей [1]. В то же время огромные межвидовые различия в скорости старения не могут быть объяснены эволюционным усилением защиты от стрессов.

В соответствии с предложенной мной развитийной теорией омоложения [2, 3] замедление старения в эволюции происходило в основном не путем изменчивости геронтогенов, а благодаря «автоматическому» продлению работы особого процесса восстановления (репарации) эпигенетических нарушений при увеличении периода развития и роста организма.

Имеются аргументы в пользу существования такого процесса. Факт чрезвычайной долговечности постмитотических нейронов мозга долгоживущих видов млекопитающих указывает на то, что нейроны могут быть незаменимы в качестве депозитариев индивидуальной памяти, а также на функционирование еще не обнаруженного высокоэффективного механизма внутриклеточной репарации. Возможно, это является причиной парадоксального

ослабления процессов заместительного нейрогенеза у взрослых людей. В данной связи представляется перспективным поиск средств замедления старения неделящихся клеток. Реалистичность такой задачи демонстрируется восстановлением сенсорных функций нейронов старых обезьян при введении нейротрансмиттера гамма-аминобутировой кислоты (ГАБА) [4]. Эти результаты указывают на то, что механизмы внутриклеточного восстановления регулируются внеклеточными молекулярными сигналами.

Межклеточные сигналы могут также оказывать омолаживающие эффекты на стволовые клетки в тканях. Так, снижение активности мышечных сателлитных клеток вследствие потери Notch-сигналинга при старении мышей проявляется нарушением регенерации мышц, а ослабление с возрастом пролиферации прогениторных клеток печени вследствие формирования комплекса, включающего сEBP- α и фактор ремоделирования хроматина Brg1, ингибирует регенерацию печени [5]. Для изучения влияния системных факторов на стареющие прогениторные клетки из этих тканей использовали метод гетерохронного парабиоза – объединения кровеносных систем двух животных разного возраста, обеспечивающий воздействие факторов, содержащихся в молодой крови, на старую мышь. Эта процедура повышала Notch-сигналинг, регенеративную способность постаревших сателлитных клеток и пролиферацию гепатоцитов, а также восстанавливала сEBP- α комплекс до уровней у молодых животных.

При добавлении в культуру сателлитных клеток сыворотка крови молодых мышей повышала экспрессию Notch Notch-лиганда Delta, активизировала Notch и усиливала пролиферацию [5]. Таким образом, культуры клеток *in vitro* применимы для поиска омолаживающих факторов. В то же время в организме, в сравнении с культурой клеток, могут функционировать более совершенные механизмы омолаживающей репарации. Это преимущество организма может быть обусловлено высокоупорядоченной пространственно-временной организацией межклеточных сигналов. Осцилляции биохимических сигналов во времени могут оказывать значительный эффект на регуляцию экспрессии генов. Например, транскрипция ядерного фактора активированных Т-клеток изменялась в зависимости от частоты осцилляций концентрации кальция [6]. Эти данные указывают на существование регуляторных кодов, основанных на частотах концентрационных колебаний сигнальных молекул.

Ослабление концентрационных флуктуаций сигнальных молекул в межклеточных пространствах тканей после завершения фи-

зического развития и роста организма может приводить к старению, которое является следствием эпигенетических изменений, нарушающих физиологически оптимальную генную экспрессию [2, 3]. Регуляция клеточного эпигенотипа осуществляется энзимами, модифицирующими ДНК (метилирование цитозина) и ДНК-связанных гистоновых белков хроматина (ацетилирование, фосфорилирование и другие модификации) [7]. Соответственно, в период эмбриогенеза и постнатального роста может функционировать особый сигнальный механизм, который ревертирует эпигенетические ошибки и, таким образом, омолаживает клетки. В пользу этого свидетельствует положительная корреляция между периодом роста и продолжительностью жизни видов. Таким образом, замедление старения в эволюции происходило в основном не путем изменчивости геронтогенов, а благодаря «автоматическому» продлению работы омолаживающей эпигенетической репарации при увеличении периода развития и роста организма. Этот же механизм предотвращает старение у организмов с индетерминированным ростом.

На мой взгляд, сопряженный с ростом механизм омоложения может также (возможно, в синергизме с уменьшением свободно-радикального повреждения макромолекул и горметическим эффектом умеренного стресса) обеспечивать замедление старения и продление жизни крыс при ограничении количества пищи (caloric restriction), приводящем к значительному продлению периода роста, обнаруженному в известных опытах Маккея [8].

Анализ механизмов межклеточной коммуникации в эмбриональном развитии ведет отсчет с исследования Х. Шпемана (1924), завершившегося созданием «теории организаторов» (Нобелевская премия по физиологии и медицине, 1935), которая основана на феномене эмбриональной индукции [9]. Организаторы – это группы клеток, секретирующие в межклеточную среду молекулы морфогенов – некоторых факторов роста и их антагонистов. Кооперативное действие морфогенов индуцирует образование определенных тканей и органов. При этом клетки реагируют не просто на концентрацию морфогенетических молекул, а на «экспозиционную историю» [10].

Идея о том, что концентрационные флуктуации морфогенов не только организуют морфогенез и постнатальный рост, но также служат омолаживающими сигналами, подтверждается регуляторной плейотропией ростовых факторов. Один и тот же фактор может индуцировать дифференцировку и обеспечивать выживание клеток [11]. Одной из причин регуляторной плейотропии являет-

ся способность ростового фактора соединяться с разными типами трансмембранных рецепторов [12].

Необратима ли утрата омолаживающей морфогенетической сигнализации в тканях после завершения роста? Возможно, ткани взрослого организма «наследуют» от эмбриона своего рода «спящие организаторы» – группы клеток, сохраняющие способность генерировать эмбрионоподобные флуктуации морфогенов. Эти «молчащие организаторы» могут быть «пробуждены» особыми ритмическими регулярными и/или нелинейными сигналами, обладающими специфическими (кодовыми) характеристиками (такими как амплитуда, частота и параметры фрактальности). Восстановление эмбрионоподобной морфогенетической сигнализации может обеспечить «второе пришествие» эпигенетической омолаживающей репарации, которая восстановит физиологически оптимальный репертуар экспрессии генома.

Нежелательные побочные последствия (например, нарушения дифференцировки) эмбрионоподобных осцилляций морфогенов в тканях взрослого организма могут отсутствовать, поскольку Шпеманом было показано, что морфогенетическая реактивность тканей строго ограничена во времени. При этом способность клеток осуществлять эпигенетическую репарацию при наличии необходимой морфогенетической регуляции может сохраняться и после завершения роста тела. Кроме того, сопряженный с развитием и ростом механизм эпигенетического омоложения должен отличаться от механизма поддержания иммортализации популяций раковых клеток [13]. Возможно, например, что индуцируемое морфогенами восстановление оптимальной геномной экспрессии происходит в постмитотических клетках и в интерфазе делящихся клеток (включая стволовые), причем этот процесс не связан с aberrантными изменениями регуляции клеточного цикла, вовлеченными в процесс эпигенетического омоложения раковых клеток. С этой точки зрения при использовании культуры клеток для поиска воздействий, замедляющих или ревертирующих старение, но не сопряженных с повышением ракового риска, целесообразно применять модель стационарного старения неделящихся клеток, используемую в работах А.Н. Хохлова [14]. При этом для изучения динамики изменений отдельных клеток представляется перспективной применяемая нами непрерывная компьютерная видеомикроскопия живых клеточных культур [13]. Кроме того, с точки зрения идеи об особой регуляторной роли флуктуаций действующих факторов наряду с поиском веществ, замедляющих старение, особый интерес представляет изучение эффектов электромагнит-

ных полей, позволяющих, по сравнению с «вещественными» факторами, в гораздо большей степени варьировать параметрами флуктуирующих воздействий. Для культур клеток это особенно важно, поскольку в них, по сравнению с организмом, намного меньше возможностей для образования регулярных пространственно-временных градиентов. Интерес к исследованию электромагнитных полей на культивируемые клетки подкрепляется открытием явления ориентированной миграции клеток к катоду или аноду электрического поля, обладающего параметрами поля, возникающего при заживлении ран [15].

Восстановление эмбрионоподобных осцилляций морфогенов в тканях организма после завершения роста в случае такого уникального вида, как человек, может быть достигнуто продолжением интеллектуального, а в более широком смысле духовного развития, которое, в отличие от развития физического, не ограничено генетической программой. В свою очередь, в процессе продолжения духовного развития мозгом могут генерироваться особые электрические сигналы, проявляющиеся в изменении энцефалограммы, что демонстрируется в исследованиях измененных состояний сознания, достигаемых медитацией [16]. Сигналы, генерируемые мозгом в состоянии развитой доминанты, могут обеспечить включение «дремлющих» (закодированных в геноме человека, но не работающих в реальной жизни) механизмов системного омоложения мозга и организма в целом. Эти животворящие импульсы могут возбуждать флуктуации морфогенов в тканях напрямую (посредством нервных окончаний) или опосредованно, модулируя ритмику продукции гормонов железами внутренней секреции.

Состояние развитой доминанты, одновременно обеспечивающее совершенствование информационного процессинга в мозге и генерацию омолаживающих сигналов, может быть достигнуто комбинированием двух психологических подходов. Первый из них – формирование приоритета принципиально неограниченного гармоничного духовного развития в структуре мотивов личности. Второй подход представляет собой новый способ медитативной техники. Известные светские и религиозные варианты медитации основаны на достижении необычных состояний сознания (обладающих благоприятными эффектами на умственное и физическое здоровье) с помощью концентрации внимания на некоторых мыслях. Предлагаемая развитая медитация, напротив, не ограничивает, а расширяет фокус сознания (включая как «обыденные», так и «трансцендентные» компоненты), что тренирует способность

мозга оперировать одновременно возрастающим объемом разнообразной информации. Эта психологическая техника характеризуется девизом «думай сразу обо всем».

ЛИТЕРАТУРА

1. *Barbieri M., Bonafe M., Franceschi C., Paolisso G.* Insulin/IGF-I-signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003. Vol. 285. P. 1064-1071.

2. *Квитко О.В.* Развительная доминанта как механизм антистарения // Альманах геронтологии и гериатрии, 2005. Вып. 4. С. 73-77.

3. *Kvitko O.* Developmental theory of rejuvenation // *J. Nutr. Health Aging.*, 2009. Vol. 13. Suppl. 1. P. 389. Abstracts of the 19th IAAG World Congress of Gerontology and Geriatrics.

4. *Levental A., Wang Y., Pu M., Ma Y.* GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys // *Science*, 2003. Vol. 300. P. 721-722.

5. *Conboy I.M., Conboy M.J., Wagers A.J., Girma E.R., Weissman I.L., Rando T.A.* Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment // *Nature*, 2005. Vol. 433. P. 760-764.

6. *Lewis R.S.* Calcium oscillations in T-cells: mechanisms and consequences for gene expression // *Biochem. Soc. Trans.*, 2003. Vol. 31. P. 925-929.

7. *Geiman T.M., Robertson K.D.* Chromatin remodeling, histone modifications, and DNA methylation – how does it all fit together? // *J. Cell. Biochem.*, 2002. Vol. 87. P. 117-125.

8. *McCay C., Crowell M., Maynard L.* The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size // *J. Nutr.*, 1935. Vol. 10. P. 63-79.

9. *De Robertis E.* Spemann's organizer and the self-regulation of embryonic fields // *Mech. Dev.*, 2009. Vol. 126. P. 945-941.

10. *Umulis D., Serpe M., O'Connor M., Othmer H.* Robust, bistable patterning of the dorsal surface of the *Drosophila* embryo // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006. Vol. 103. P. 11613-11618.

11. *Bottcher R., Niehrs C.* Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development // *Endocr. Rev.*, 2005. Vol. 26. P. 63-77.

12. *Blazsek I.* Innate chaos: I. The origin and genesis of complex morphologies and homeotic regulation // *Biomed Pharmacother.*, 1992. Vol. 46. P. 219-235.

13. *Kvitko O.V., Koneva I.I., Sheiko Y.I., Anisovich M.V.* Hunting the mechanisms of self-renewal of immortal cell populations by means of real-time imaging of living cells // *Cell Biol. Int.*, 2005. Vol. 29. P. 1019-1024.

14. *Хохлов А.Н., Прохоров Л.Ю., Акимов С.С., Шиловский Г.А., Щеглова М.В., Сорока А.Е.* «Стационарное старение» клеточных культур: попытка оценки влияния «возраста» среды // *Цитология*, 2005. Т. 47. С. 318-322.

15. *Zhao M., Song B., Pu J., Reid B., Tai G., Wang F., Guo A., Walcysko P., Gu Y., Suzuki A., Forrester J.V., Bourne H.R., Devreotes P.N., McCaig*

C.D., Penninger J.M. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase- γ and PTEN // *Nature*, 2005. Vol. 442. P. 457-460.

16. *Cahn B.R., Delorme A., Polich J.* Occipital gamma activation during Vipassana meditation // *Cogn. Process.*, 2010. Vol. 11. P. 39-56.

Development associated epigenetic mechanism of age-related disturbances repair

O.V. Kvitko

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences
of Belarus, Minsk, Belarus

According to the developmental theory of rejuvenation slowing down aging in evolution has been achieved not due to changes of gerontogenes but basically by «automatic» prolongation of the work of a special repair mechanism under the extension of the period of an organism's development and growth. In frames of this mechanism fluctuations of concentrations of morphogens (proteins that govern development and growth) simultaneously (pleiotropically) activate the repair of epigenetic mistakes (epimutations) that are the main cause of aging and consist of changes in DNA cytosine methylation and modifications of histones of chromatin. After the end of development and growth fluctuations of concentrations of morphogens dampen, and age-related disturbances accumulate. This idea is supported by the positive correlation of species' life span with a period of development and growth as well as by an incessant increase of body size in species with negligible senescence. The main method of life extension that is pointed at by nature is a continuation of development which, in case of humans, might be not a change of body structure and size but the improvement of brain's performance.

ВОЗРАСТНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ МАЛОЙ ЛЕСНОЙ МЫШИ В НЕОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ОБИТАНИЯ

Н.Е. Колчева

Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

В большом числе экологических работ исследователям нужно охарактеризовать демографические параметры популяций животных. Поэтому проблема адекватной оценки, а также соотношения хронологического и биологического возраста объектов является одной из ключевых.

Специфичность грызунов весенних и осенних когорт была описана еще несколько десятков лет назад [3]. Она заключается в том, что в условиях бореального климата онтогенез весенних сеголеток характеризуется очень короткой предрепродуктивной и относительно продолжительной репродуктивной фазой, а у осенних сеголеток – наоборот. При этом продолжительность жизни последних в два-три раза выше.

Два типа онтогенеза, описанные Г.В. Оленевым [2] на примере возрастных изменений зубов рыжих полевков, очевидно, присущи и другим мышеобразным. Однако детальные исследования в отношении других видов (брахиодонтных мышей с бунодонтным типом коронки или полевков с выраженной гипсодонтией) затруднены из-за сложностей их возрастной диагностики.

Цель работы: анализ классического для многих млекопитающих возрастного маркера – абразивного износа жевательной поверхности коренных зубов в онтогенезе на примере малой лесной мыши (*Sylvaemus uralensis* Pall.) – и использование комплекса биомаркеров для изучения закономерностей динамики демографической структуры природных популяций (в частности, в неоптимальных условиях среды).

Проведены многолетние сезонно-мониторинговые стационарные исследования на Южном Урале, где условия обитания не везде адекватны экологическим требованиям этого вида. В опыте у отловленных грызунов при камеральной обработке регистрировали комплекс морфологических и морфофизиологических признаков. Параллельно проводили контрольное индивидуальное мечение с повторными животоотловами и избирательным изъятием животных с целью получения эталонных экземпляров с точно известными сроками рождения.

Для определения возраста и изучения возрастной структуры популяции оценивали общие размеры, окраску меха, степень развития тимуса, абсолютно сухой вес хрусталика, краниологические характеристики, репродуктивный статус в онтогенетическом, сезонном и функционально-физиологическом аспектах.

Изучение онтогенетических изменений зубной системы малой лесной мыши дало возможность проследить общие закономерности процесса стирания коренных зубов у этого вида, описать отдельные его стадии и использовать данный признак в качестве одного из возрастных (сопоставив с датированным материалом). Кроме того, параллельно отмечали краниальные возрастные изменения, сезонную изменчивость одонтологических показателей и половой диморфизм в стирании зубов.

Анализ эталонных черепов меченых мышей свидетельствует о приуроченности дифференцированных нами девяти онтогенетических стадий стирания зубов («возрастных классов») к определенным срокам жизни [1]. При этом отмечены сезонные отличия по скорости возрастных изменений как у зимовавших, так и у сеголеток. Размножающиеся самки-сеголетки часто имеют большую степень износа зубов, чем самцы и неразмножающиеся самки. Вне периода размножения осенью и у неразмножающихся мышей летом половых отличий в снашивании коронок не обнаруживается. Очевидна связь с физиологическими особенностями, в первую очередь, энергетическими потребностями при репродукции.

В связи с указанными обстоятельствами использование степени стертости зубов как возрастного критерия имеет определенные ограничения. Однако, учитывая физиологическое состояние животных и сезонное распределение популяционных функций, можно значительно повысить точность определения возраста грызунов по этому признаку. Применение данного биомаркера в комплексе с другими позволяет более корректно анализировать демографические ситуации в динамике популяций.

Динамика структуры имеет важное значение в поддержании популяционной гетерогенности и приобретает существенный вес в пессимальных условиях среды, чаще на периферии ареала, где высоко давление экзогенных факторов.

В отклоняющихся от оптимальных условиях среды большое значение в функционировании популяции приобретают процессы элиминации. Оценка интенсивности вымирания структурных групп (возрастных, функциональных) проводилась путем расчета удельной (ежемесячной) смертности.

Характер элиминации отдельных возрастных групп неодинаков на разных фазах популяционного цикла. В годы высокой численности выживаемость молодняка выше: у размножающихся сеголеток удельная смертность составляла 23 и 33% (у зимовавших в этот период она была интенсивнее: 39 и 44%). В годы депрессии, наоборот, выживаемость сеголеток была ниже: их удельная смертность достигала 54 у неразмножающихся и 83% у размножающихся, у зимовавших – до 30%.

Исследование возрастных спектров взрослой части популяции показало, что пропорция возрастных когорт в группировке зимовавших в разные годы популяционного цикла менялась. Годы с низкой численностью характеризовались общим «постарением» населения, а в годы повышения численности происходило его «омоложение» за счет возрастного состава зимовавших и увеличения

количества прибылых, родившихся и выживших в начале лета. Динамика процессов постарения-омоложения в популяции малой лесной мыши помимо продолжительности жизни разных когорт в контроле подтверждается степенью стертости моляров у опытных грызунов.

Таким образом, отмеченные на разных фазах популяционного цикла структурно-демографические трансформации, описанные ранее другими авторами для полевок, имеют место и у мышей (с некоторыми отличиями в механизмах реализации).

Условия среды в разных функциональных частях ареала отражаются на структурной специфике популяций, определяя в итоге уровень численности вида. Демографической особенностью конкретной популяции является ведущая роль зимовавших животных в репродуктивном процессе. Из-за частой гибели и раннего блокирования размножения сеголеток осенние когорты представлены вновь первым поколением (как и первые когорты, они появляются от зимовавших). Для популяций этого вида в зоне оптимума отмечается до трех поколений. С упрощением возрастной структуры популяции и сезонной инверсией поколений снижается ее гетерогенность, что типично для географически и экологически «краевых» поселений.

Итак, в неоптимальных условиях среды при указанных параметрах следует ожидать снижения устойчивости популяции. Об этом свидетельствует лимитированный тип динамики численности с резкими неритмичными колебаниями, что при высоком уровне смертности приводит к длительным депрессиям. Тем не менее, в популяции всегда имеется демографический резерв (около 80% неразмножающихся сеголеток с увеличенной предрепродуктивной фазой онтогенеза), который потенциально может быть активирован популяцией в критические периоды жизнедеятельности.

Работа выполнена при частичной поддержке Президиума РАН (программа «Биологическое разнообразие») и Программы Президиума УрО РАН по интеграционным проектам УрО, СО и ДВО РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колчева Н.Е. Стертость зубов как критерий возраста малой лесной мыши при анализе возрастной структуры популяций // Вестн. ОГУ, 2009. Ч. I. С. 77-80. – (Спец. выпуск).
2. Оленев Г.В. Альтернативные типы онтогенеза цикломорфных грызунов и их роль в популяционной динамике (экологический анализ) // Экология, 2002. № 5. С. 341-350.

3. Шварц С.С., Ищенко В.Г., Овчинникова Н.А. и др. Чередование поколений и продолжительность жизни грызунов // Журн. общей биологии, 1964. Т. 25, № 6. С. 417-433.

Age heterogeneity of the wood mouse population in nonoptimal environmental conditions

N.E. Kolcheva

Institute of Plant and Animal Ecology, Yekaterinburg, Russia

In the research of the demographic structure of rodent populations a number of biomarkers was used for age determination. The analysis of the obliteration degree of *Sylvaemus uralensis* teeth in ontogenesis revealed seasonal, sexual and physiological distinction in the rates of tooth aging changes. Structural-demographic transformations connected with aging and rejuvenation at various population phases were typical of mice as for voles. Simplification of the population age structure in nonoptimal environmental conditions reduced its heterogeneity and stability.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ГРИБА ШИИТАКЕ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ТЕПЛОВОМУ ШОКУ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Н. Матюшкова, Э. Свилпе, И. Муйжниекс
Латвийский университет, г. Рига, Латвия

Введение

Широко культивируемые грибы шиитаке – *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler – относятся к базидиальным грибам [9]. По типу питания шиитаке – сапрофиты и растут на древесине лиственных деревьев. Родина шиитаке – Дальний Восток, но благодаря уникальному вкусу, наличию питательных и целебных свойств ареал культивирования грибов значительно расширился. По объему продукции среди культивируемых грибов шиитаке занимает третье место в мире [1]. Выращивают шиитаке и в Латвии [7].

Использование грибов для улучшения здоровья основано на старинных медицинских традициях востока и современных научных исследованиях, которые показали на моделях животных влияние грибов шиитаке на плодовитость [12], проявление антиканцерогенных, иммуномодулирующих, антивирусных свойств [4,

10, 11]. Таким образом, грибы обладают большим потенциалом для использования в качестве пищевых добавок, повышающих жизнеспособность организмов, однако данных о влиянии шиитаке на продолжительность жизни и устойчивость к стрессам не найдено.

Плодовая муха *Drosophila melanogaster* – модельный объект, на котором активно ведутся исследования в этом направлении [3, 5, 6, 8].

В данной работе мы изучали влияние экстракта гриба шиитаке на продолжительность жизни и устойчивость к стрессу, тепловому шоку на модели *D. melanogaster*.

Материалы и методы

В качестве материала для исследования была использована инбредная линия *D. melanogaster* дикого типа.

Самцы и самки виргинных мух содержались отдельно по 20 шт. с пересадкой на свежую питательную среду каждые пять суток. Продолжительность жизни и устойчивость к тепловому шоку (35 °C в течение трех часов) определялась в четырех группах *D. melanogaster*:

1) самки и 2) самцы, получавшие в качестве пищевой добавки экстракт гриба (ЭГ) шиитаке;

3) самки и 4) самцы, не получавшие в качестве пищевой добавки ЭГ (контрольный вариант).

ЭГ шиитаке штамма DSM3565 получали путем экстрагирования свежих плодовых тел гриба, выращенных в лабораторных условиях, горячей водой (90 °C) по методу G. Chihara и др. с некоторыми модификациями [2].

Лиофилизированный ЭГ в концентрации 1.3 мг/мл смешивался с суспензией дрожжей 1:1 и наносился на поверхность стандартной банановой среды в стаканчиках Виеля, куда помещали самцов и самок виргинных мух. Группы делились на подгруппы в зависимости от возраста имаго, подвергавшихся тепловому шоку. Каждая из подгрупп содержала по 30 особей, разделенных по пять на стаканчик Виеля.

Продолжительность жизни особей определяли в сутках, выживаемость особей – в процентах. Схема эксперимента показана на рис. 1.

Для оценки динамики продолжительности жизни каждой из групп нами были выбраны следующие показатели средней продолжительности жизни: I – для 10% особей группы с наименьшей продолжительностью жизни, II – для 10% наиболее долгоживущих особей группы, III – для 80% остальных особей группы, так-

же подсчитывали среднюю продолжительность жизни особей всей группы (100%).

Значение *P* между группами и подгруппами определялось методом Kaplan-Meier log rank test, SPSS 18.

Результаты

Динамика выживаемости самцов и самок различалась. Выживаемость самок при увеличении возраста мух *D. melanogaster* значительно выше, чем выживаемость самцов независимо от наличия или отсутствия ЭГ в качестве пищевой добавки (рис. 2). Для самцов показано статистически достоверное положительное влияние экстракта гриба на минимальную и среднюю продолжительность жизни. Максимальная продолжительность жизни самцов не увеличилась под влиянием ЭГ (см. таблицу).

Продолжительность жизни самок выше, чем самцов, однако влияние ЭГ шиитаке на продолжительность жизни виргинных самок дрозофилы отсутствовало (см. таблицу).

После теплового шока продолжительность жизни виргинных самцов и самок *D. melanogaster* всех возрастных категорий (10, 20 и 40 дней), используемых в эксперименте, снижалась (рис. 3) по сравнению со средней продолжительностью жизни виргинных самцов и самок, не подвергавшихся теплового шоку (см. таблицу).

При указанной концентрации ЭГ шиитаке

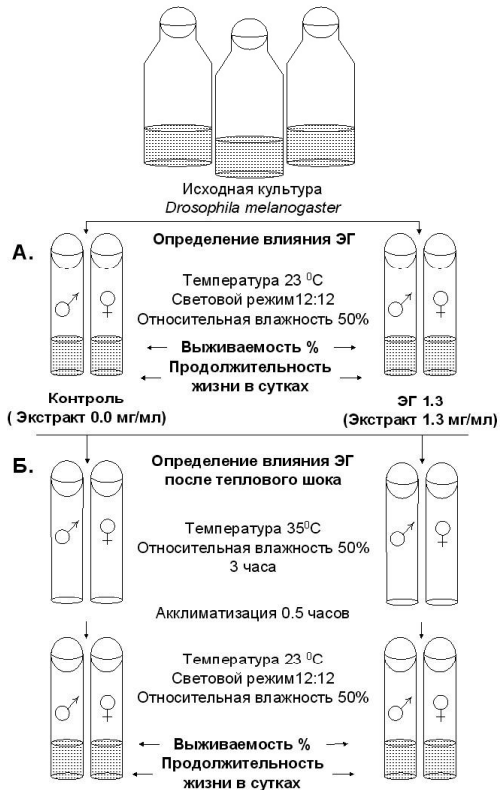


Рис. 1. Схема эксперимента по определению влияния ЭГ шиитаке на продолжительность жизни *D. melanogaster*: А – без теплового шока, Б – после теплового шока.

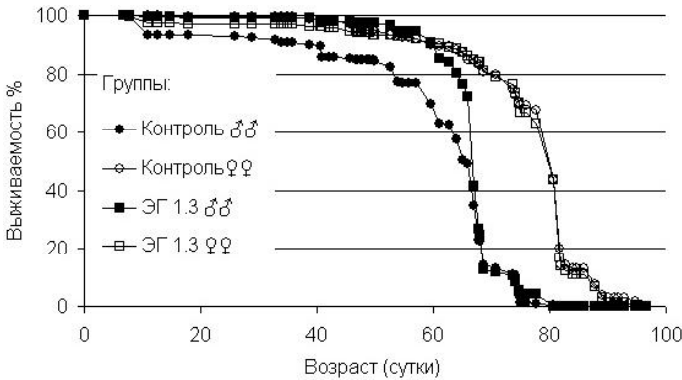


Рис. 2. Выживаемость самцов и самок *D. melanogaster* в зависимости от возраста: \square самки и \blacksquare самцы, получавшие в качестве пищевой добавки ЭГ шиитаке; \circ самки и \bullet самцы, не получавшие в качестве пищевой добавки ЭГ.

достоверно уменьшал последствия теплового шока только у 40-дневных имаго дрозофилы, увеличивая среднюю продолжительность жизни как самцов, так и самок (рис. 3). Таким образом, для ЭГ шиитаке показано возрастзависимое повышение выживаемости мух в ответ на тепловой шок.

Продолжительность жизни самцов (верхняя строка) и самок (нижняя строка) *D. melanogaster* в зависимости от наличия ЭГ шиитаке в качестве пищевой добавки

Номер	Процент популяции	Группа		P
		Контроль $\bar{X} \pm S\bar{x}$	ЭГ 1.3 $\bar{X} \pm S\bar{x}$	
I	0-10	17.96 ± 2.35	50.86 ± 3.12*	0
		48.43 ± 2.78	38.57 ± 4.95	0.494
II	90-100	75.47 ± 0.44	77.00 ± 0.69	0.243
		90.79 ± 0.84	89.59 ± 0.58	0.491
III	10-90	63.08 ± 0.57	66.88 ± 0.17*	0
		78.70 ± 0.49	78.28 ± 0.46	0.625
	0-100	59.84 ± 1.11	66.29 ± 0.55*	0.008
		76.88 ± 0.94	75.53 ± 1.15	0.683

Примечание. $\bar{X} \pm S\bar{x}$ – среднее арифметическое значение ± стандартная ошибка средней арифметической (сутки).

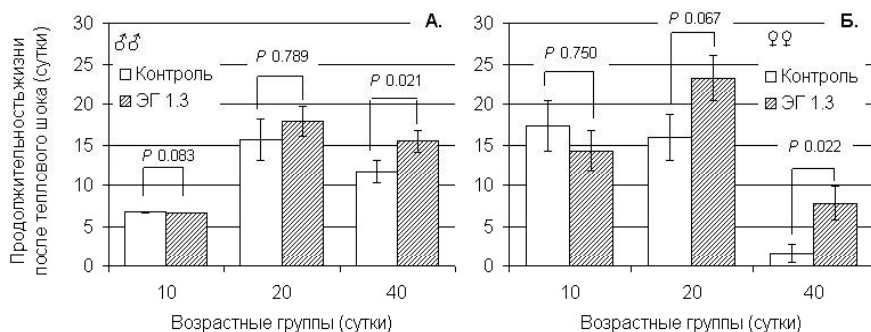


Рис. 3. Влияние ЭГ шиитак на продолжительность жизни различных возрастных групп *D. melanogaster* после теплового шока: А – самцы, Б – самки.

Заключение

Показано воздействие экстракта гриба шиитак на увеличение средней продолжительности жизни имаго *D. melanogaster* при естественном старении и после воздействия тепловым шоком. Увеличение продолжительности жизни после теплового шока указывает на возможное изменение в синтезе белков семейства Hsp, усиливающих действие защитных механизмов в клетке и обладающих способностью поддерживать гомеостаз, увеличивая таким образом продолжительность жизни особей [6]. Работа продолжится в направлении поиска биологически активных веществ экстракта гриба шиитак и изучения молекулярной природы их герпротекторного действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухало А.С., Бисько Н.А., Соломко Э.Ф., Билай В.Т., Митропольская Н.Ю., Поединок Н.Л., Гроздинская А.А., Михайлова О.Б. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. Киев: Чернобыльинтеринформ, 2004. 128 с.
2. Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y., Fukuoka, F. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res.*, 1970. Vol. 30. P. 2776-2781.
3. Grotewiel M.S., Martin I., Bhandari P., Cook-Wiens E. Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Res. Rev.*, 2005. Vol. 4. P. 372-397.
4. Hobbs C.R. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Agaricomycetidae). *Int. J. Med. Mushrooms*, 2000. Vol. 2. P. 287-302.
5. Jafari M., Rose M.R. Rules for the use of model organisms in antiaging pharmacology. *Aging Cell.*, 2006. Vol. 5. P. 17-22.

6. Morrow G., Tanguay R.M. Heat shock proteins and aging in *Drosophila melanogaster*. Semin. Cell Dev. Biol., 2003. Vol. 14. P. 291-299.

7. Muiznieks I., Matjuskova N., Karnite G., Lainis J., Zala D., Balode V., Kapaca A., Verdins P. Cultivation of the shiitake mushroom (*Lentinula edodes* (BERK.) SING.) in Latvia. Fungi and Lichens in the Baltic Regions. 13 th International Conference on Mycology and Lichenology. Riga, Latvia, 1966. P. 39-40.

8. Paaby A.B., Schmidt P.S. Dissecting the genetics of longevity in *Drosophila melanogaster*. Fly, 2009. Vol. 3. P. 29-38.

9. Przybylowicz P., Donoghue J. Shiitake Growers Handbook. Kendall / Hunt Publishing Company, Iowa, 1990. 217 p.

10. Yap A.-T., Ng M.-L. The medicinal benefits of lentinan (β -1, 3-D glucan) from *Lentinus edodes* (Berk.) Singer (Shiitake mushroom) through oral administration. Int. J. Med. Mushrooms., 2005. Vol. 7. P. 175-191.

11. Zhan Hai Y., Yin L., Yang Q., Liu Y. Effect of *Lentinus edodes* polysaccharide on oxidative stress, immunity activity and oral ulceration of rats stimulated by phenol. Carbohydr. Polym., 2008. Vol. 75. P. 115-118.

12. Zorenko T., Matjuskova N., Muiznieks I. The effects of mushroom shiitake on ontogenesis and reproduction of the social vole *Microtus socialis* (Rodentia, Cricetida). Balt. J. Lab. Anim. Sci., 2003. Vol. 13. P. 69-77.

Influence of shiitake mushroom extract on the life span and heat shock resistance of *Drosophila melanogaster*

N. Matjuskova, E. Svilpe, I. Muiznieks
University of Latvia, Riga, Latvia

Shiitake mushroom *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler is worldwide cultivated edible basidiomycete with high nutritious value and proven medical properties. Influence of shiitake mushrooms extract (ME) on the life span and heat shock resistance of *D. melanogaster* virgin males and females is described in this research. ME influenced statistically significant increase in the mean life span of drosophila males and showed no remarkable effect on female life span. Heat shock (35 °C, 3h) reduced the life span of male and female flies. ME statistically significantly increased the mean life span of drosophila males and females exposed to shock at the age of 40 days, but not at the age of 10 or 20 days. Further studies are planned to identify the biologically active components of ME and to characterize the molecular mechanism of their geroprotective effect.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗРАСТНОЙ РЕАКЦИИ НА УМЕРЕННЫЕ СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

А.И. Михальский¹, D. Wu², A.I. Yashin², T.E. Johnson³

¹ Институт проблем управления РАН, Москва, Россия; e-mail: mpoctok@ya.ru

² Center for Population Health and Aging, Duke University, Durham, USA;
e-mail: aiy@duke.edu

³ Department of Integrative Physiology, University of Colorado at Boulder,
Boulder, USA

Введение

Связь стресса с феноменом старения общепризнанна [1]. Под стрессом понимают комплекс неспецифических приспособительных реакций на сильное воздействие различной природы. Эти реакции направлены на мобилизацию энергетических и пластических ресурсов организма в ответ на внешнее воздействие. В основе дожития до старшего возраста и стрессоустойчивости лежит повышенная жизнеспособность и адаптационная эффективность, которые, в свою очередь, определяются эффективностью функционирования гомеостаза, эффективностью протекающих в организме метаболических и энергетических реакций [4]. В результате эволюционного развития совершенствовались механизмы противодействия как внутреннему, возникающему в результате жизнедеятельности, так и внешнему со стороны окружающей среды стрессу, приводя к формированию как видовой продолжительности жизни, так и стрессоустойчивости [10].

Экспериментальное подтверждение увеличения продолжительности жизни вместе с повышением стрессоустойчивости получено для различных организмов. Выявлены мутации дрожжей, увеличивающие устойчивость к оксидантам и продолжительность жизни [6]. Описано увеличение продолжительности жизни у генетически модифицированных червей *C. elegans*, имеющих повышенную термоустойчивость [8]. Мутанты мухи *Drosophila* демонстрируют одновременно и повышенную стрессоустойчивость, и увеличенную продолжительность жизни [13]. Высокая положительная корреляция между стрессоустойчивостью и продолжительностью жизни дает основания считать, что те же самые механизмы, которые защищают клетки от стресса, могут защитить клетки и от повреждений, вызванных старением [9].

В зависимости от характера и уровня результат стрессового воздействия может быть как негативным, так и позитивным. Применительно к анализу выживания это выражается в увеличении продолжительности жизни по сравнению с контролем в группе

животных, подвергшихся умеренному стрессу, который приводит к сокращению продолжительности жизни, если применяется в большей степени. Уровень стрессового воздействия может измеряться длительностью стрессового воздействия, величиной температуры, уровнем влажности, дозой радиационного воздействия и т.д. Положительное действие стресса получило название *гормезис* [2]. Эксперименты по изучению влияния внешних условий на стрессоустойчивость и продолжительность жизни лабораторных животных проводятся на червях, мухах, мышах, однако лишь ограниченное число математических моделей было предложено для описания явления гормезиса [5, 7, 14].

Данные

В работе использованы результаты стрессовых экспериментов с нематодами *C. elegans* линии TJ375, которые проводились по следующей схеме [14]. Черви выращивались при температуре 20 °С, в первый день взрослой жизни формировались шесть групп: контрольная, не подвергающаяся нагреванию, и пять групп, подвергавшиеся нагреванию до температуры 35 °С в различном возрасте с первого до 13-го дня. В табл. 1 представлена информация о числе животных в каждой группе, дне и длительности нагревания. После нагревания черви возвращались в среду при температуре 20 °С. Каждый день подсчитывалось число живых и умерших животных в каждой из групп. Средняя продолжительность жизни и среднеквадратичное отклонение для этой оценки приведены в двух последних столбцах табл. 1.

В таблице видно, что многократное непродолжительное нагревание до температуры 35 °С статистически значимо увеличивает среднюю продолжительность жизни нематод.

Таблица 1

Число животных, режимы нагревания и средняя продолжительность жизни в различных экспериментальных группах *C. elegans*

Группа	Число животных	День 1	День 4	День 7	День 10	День 13	Средняя продолжительность жизни (дни)	Среднеквадратичное отклонение (дни)
Контроль	305	---	---	---	---	---	18.5	0.2
№ 1	286	1 час	---	---	---	---	21.4	0.3
№ 2	292	1 час	55 мин.	---	---	---	23.2	0.3
№ 3	307	1 час	55 мин.	50 мин.	---	---	24.4	0.3
№ 4	348	1 час	55 мин.	50 мин.	40 мин.	---	25.4	0.3
№ 5	306	1 час	55 мин.	50 мин.	40 мин.	30 мин.	26.1	0.4

Методы

Изучение влияния термического стресса на продолжительность жизни нематод проводилось с использованием двухфазной модели дожития [3, 7]. Функция дожития в возрасте x при использовании двухфазной модели имеет вид

$$S(x) = \begin{cases} \exp(-H(x, \varepsilon_0)) & x < x^* \\ \exp(-H(x^*, \varepsilon_0)) - \exp(-H(x - x^*, \varepsilon_1)) & x \geq x^* \end{cases} \quad (1)$$

где $H(x, \varepsilon)$ – кумулятивный риск смерти, ε_0 и ε_1 – уровень негативного воздействия, не нейтрализованного системами защиты, на первой и на второй фазах соответственно, x^* – возраст переключения уровня защиты.

В соответствии с общей теорией старения Стрелера и Милдвана [12] кумулятивный риск смерти представляется в виде

$$H(x, \varepsilon) = \frac{a}{b} (\exp(bx) - 1) = \frac{K \exp(-V_0 / \varepsilon)}{V_0 B / \varepsilon} (\exp(V_0 B x / \varepsilon) - 1),$$

где V_0 – начальный уровень витальности, B – относительный темп снижения витальности, K – интенсивность возникновения внешнего стрессового воздействия.

Параметры двухфазной модели дожития (1) оценивались отдельно в контрольной и каждой экспериментальной группе по кривым дожития методом наименьших квадратов. Возраст переключения уровня защиты x^* был принят равным 19 дням, поскольку при этой величине получались оценки параметров модели с приемлемой дисперсией, которая определяется числом точек экспериментальной функции дожития, расположенных на каждой из фаз.

Результаты

На рис. 1 показан результат идентификации двухфазной модели дожития (1) в контрольной и экспериментальной группах. На панели А показаны экспериментальные и модельные кривые дожития, на панели Б приведены полученные оценки параметров и для модели Гомпертца для первой и для второй фаз с соответствующими 95% -ными доверительными интервалами.

Из общей теории старения Стрелера и Милдвана следует, что при неизменных свойствах организма должно выполняться соотношение между параметрами b и $\ln(a)$ модели Гомпертца, называемое корреляцией Стрелера-Милдвана, $\ln(a) = \ln K - b / B$ [2]. На рис. 2 приведены оценки параметров b и $\ln(a)$ для первой и второй

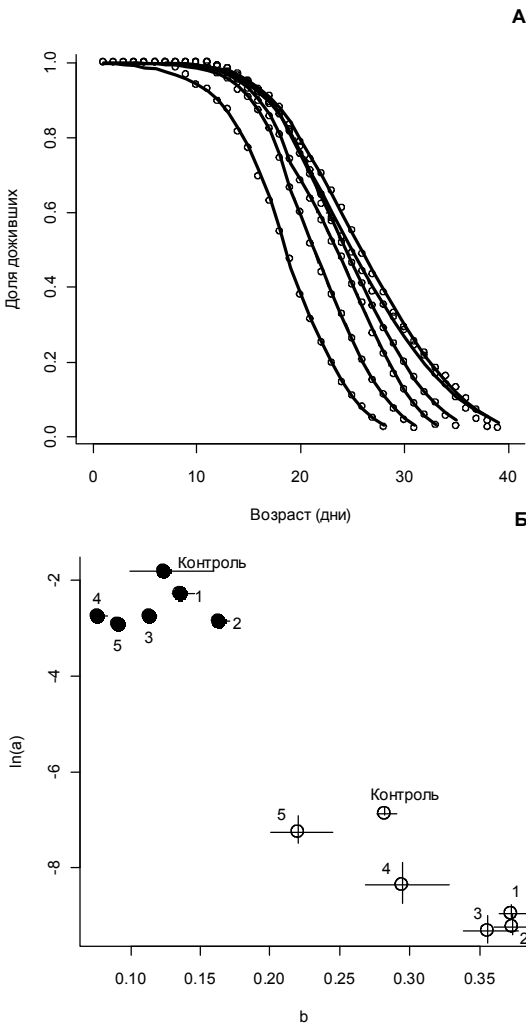


Рис. 1. Экспериментальные (o) и модельные (сплошные линии) кривые дожития (А) и оценки параметров b и $\ln(a)$ для модели Гомпертца для первой (o) и второй (●) фаз (Б).

Примечания. Возле точек проставлены числа, соответствующие числу нагреваний нематод. Оценки в контрольной группе отмечены словом «Контроль». Для оценок параметров b и $\ln(a)$ приведены 95%-ные доверительные интервалы.

А фаз в экспериментах с нематодами с указанием наблюдаемых линейных зависимостей между оценками параметров в различных экспериментах. В табл. 2 приведены параметры зависимостей, соответствующих корреляции Стрелера-Милдвана для каждой из двух фаз в различных экспериментах.

Из рис. 2 и табл. 2 видно, что параметры кривой дожития Гомпертца в контрольной группе и при нагревании не более двух раз и для первой, и для второй фаз жизни нематод хорошо ложатся на почти параллельные прямые. При нагревании более двух раз параметры кривой дожития Гомпертца на первой фазе ложатся на прямую линию, имеющую меньший наклон, чем прямая линия, соответствующая первой фазе для контрольной группы и групп, подвергшихся нагреванию до двух раз. При нагревании более двух раз зависимость параметра $\ln(a)$ от параметра b на второй фазе жизни практически исчезает.

Обсуждение

В рамках теории Стрелера-Милдвана перемещение точки на плоскости с координатами b , $\ln(a)$ по прямой линии соответствует изменению продолжительности жизни при изменении уровня негативного воздействия, не нейтрализованного защитными системами организма. Сам же организм при этом не изменяет своей способности к выживанию и, в частности, темпа снижения витальности с возрастом.

По указанной причине в контрольной и группах животных, подвергшихся нагреванию на первый, а также на первый и четвертый дни жизни, стимуляция защитных сил организма в результате умеренного теплового стресса – гормезиса – повышает уровень защиты организма от внешнего негативного воздействия на первой и второй фазе, не изменяя, однако, способности организма к выживанию. В результате наблюдается увеличение продолжительности жизни нематод, а параметры кривых дожития для первой и второй фаз располагаются на почти параллельных прямых. Эти две прямые не сливаются в одну, поскольку интенсивность стрессового воздействия, не нейтрализованного системой защиты организма на второй фазе жизни и отвечающая за смещение прямой, возрастает в силу параметрического возрастного дрейфа параметров организма [3, 7].

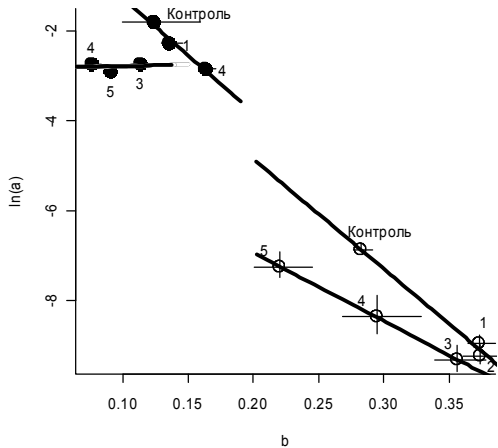


Рис. 2. Оценки параметров модели Гомпертца для первой (○) и второй (●) фаз с соответствующими 95%-ными доверительными интервалами и линейными корреляциями.

Таблица 2

Параметры прямых, соответствующих «корреляциям Стрелера-Милдвана» на различных фазах жизни нематод в контрольной и экспериментальных группах

Число нагреваний	$\ln K$ на первой фазе	$1/B$ на первой фазе	$\ln K$ на второй фазе	$1/B$ на второй фазе
Контроль, 1, 2	0.1	24.6	1.3	25.4
3, 4, 5	-3.9	15.2	-2.8	0.7

При более чем двукратном нагревании на первой фазе жизни *C. elegans* происходит дальнейшая стимуляция системы защиты, что приводит, с одной стороны, к снижению интенсивности стрессового воздействия K , не нейтрализованного системой защиты и достигающего организм, а с другой стороны, к заметному увеличению выработки побочных вредных продуктов, увеличивая скорость падения витальности B . В результате параметры кривой дожития ложатся на более пологую прямую, чем при одно- или двукратном нагревании. На второй фазе жизни *C. elegans* при более чем двукратном нагревании в результате переключения уровня защиты формируется значение параметра кривой дожития Гомпертца a , слабо зависящее от значения параметра b . Возможное объяснение наблюдаемого эффекта заключается в том, что при высокой концентрации активных форм кислорода организм *C. elegans* переключается с аэробного на анаэробный метаболизм [11]. При этом резко падает продукция побочных активных форм кислорода и параметр начальной смертности α далее не увеличивается, а величина параметра b , по-видимому, изменяется нерегулярно. Полученные результаты уточняют механизм модуляции продолжительности жизни и могут служить ориентиром для постановки новых экспериментов по изучению влияния термического стресса на продолжительность жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: В 2 т. СПб.: Наука, 2008. Т. 1. 481 с.; Т. 2. 434 с.
2. Ивановский Ю.А. Радиационный гормезис, радиационная стимуляция и гиперфункциональный эффект ионизирующего облучения // Радиобиология, 1993. Т. 33. С. 760-763.
3. Михальский А.И., Яшин А.И. Биологическая регуляция и продолжительность жизни // Проблемы управления, 2003. № 3. С. 61-65.
4. Новосельцев В.Н. Моделирование естественных технологий организма для исследования процессов управления его жизнедеятельностью // Автоматика и телемеханика, 1992. № 12. С. 96-105.
5. Butov B., Johnson T., Cypser J., Sannikov I., Volkov M., Sehl M., Yashin A.I. Hormesis and debilitation effects in stress experiments using the nematode worm *Caenorhabditis elegans*: the model of balance between cell damage and HSP levels // Exp. Gerontol., 2001. Vol. 37. P. 57-66.
6. Fabrizio P., Pozza F., Pletcher S.D., Gendron C.M., Longo V.D. Regulation of Longevity and Stress Resistance by Sch9 in Yeast // Science, 2001. Vol. 292. P. 288-290.
7. Michalski A.I., Johnson T.E., Cypser J.R., Yashin A.I. Heating stress patterns in *Caenorhabditis elegans* longevity and survivorship // Biogerontology, 2001. Vol. 2. P. 35-44.

8. Munoz M.J. Longevity and heat stress regulation in *Caenorhabditis elegans* // Mech. Ageing Dev., 2003. Vol. 124. P. 43-48.
9. Novoseltsev V. N., Carey J., Liedo P., Novoseltseva J., Yashin A. I. Anticipation of oxidative damage decelerates aging in virgin female medflies: hypothesis tested by statistical modeling // Exp. Gerontol., 2000. Vol. 35. P. 971-987.
10. Parsons P.A. The ecological stress theory of aging and hormesis: an energetic evolutionary model // Biogerontology, 2007. Vol. 8. P. 233-242.
11. Rea S., Johnson T.E. A metabolic model for life span determination in *Caenorhabditis elegans* // Dev. Cell., 2003. Vol. 5. P. 197-203.
12. Strehler B.L., Mildvan A.S. General Theory of Mortality and Aging // Science, 1960. Vol. 132. P. 14-21.
13. Tatar M., Kopelman A., Epstein D., Tu M.-P., Yin C.-M., Garofalo R.S. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function // Science, 2001. Vol. 292. P. 107-110.
14. Wu D., Cypser J.R., Yashin A.I., Johnson T.E. Multiple mild heat-shocks decrease the Gompertz component of mortality in *Caenorhabditis elegans* // Exp. Gerontol., 2009. Vol. 44. P. 607-612.

Modeling of age-related response on multiple mild shocks

A.I. Mikhalski¹, D. Wu², A.I. Yashin², T.E. Johnson³

¹ Institute of Control Sciences of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

² Center for Population Health and Aging, Duke University, Durham, USA

³ Department of Integrative Physiology, University of Colorado at Boulder,
Boulder, USA

Survival of *C.elegans* is investigated in conditions of multiple mild heat stress. A two phases model is used, which is based on the hypothesis of linear decline in vitality with age and a switch of protective antistress forces at the second phase of life after age 19 days. The results of the analysis demonstrate that in the control group and in the two groups, which were heated one and two times, parameters of Gompertz survival curve b and $\ln a$ follow the Streler-Mildvan correlation at both phases. In the groups, heated more than 2 times, parameters of Gompertz survival curve follow the Streler-Mildvan correlation only at the first phase of life. At the second phase of life the logarithm of initial mortality parameter a is practically the same for any number of heatings. It is hypothesized that after more than two heatings at the second phase of life nematods *C. elegans* change mitochondrial metabolic pathways from aerobic respiration to fermentative malate dismutation because of high concentration of reactive oxygen species which are produced as a byproduct of the reactions, stimulated by heating.

АТМОСФЕРА, ЭВОЛЮЦИЯ, ОМОЛОЖЕНИЕ И ПРОДЛЕНИЕ ЖИЗНИ

Х.К. Мурадян, А.Н. Тимченко

Институт геронтологии АМН Украины, г. Киев, Украина;

e-mail: kkm@geront.kiev.ua

Введение

Продление жизни и омоложение имеют многовековую историю, полную драматических коллизий. К сожалению, несмотря на непрекращающиеся усилия и очевидное прикладное значение, сколько-нибудь существенных успехов здесь достигнуть не удалось. В результате в определенных медико-биологических кругах, претендующих на академичность, термин «омоложение» стал почти нецензурным, а концепции о продлении жизни и омоложении из доминирующих геронтологических доктрин превратились в бесполезные и даже вредные умозаключения, которые, как проекты вечного двигателя, только мешают нормальной работе. В таком провале, а иначе создававшуюся ситуацию не назовешь, виноваты многие, но прежде всего это те, кто непосредственно занимался поиском средств продления жизни. Ведь череда сенсационных заявлений и последующих не менее шумных разоблачений всевозможных «эликсиров молодости и долголетия» не только изрядно подпортили авторитет этого направления исследований, но и способствовали тому, что у значительной части специалистов и особенно «неспециалистов» сложилось мнение о том, что эти задачи не решаемы в принципе. Суровый тон по поводу скромности достижений здесь все же должен быть несколько смягчен, учитывая, что неудачи в этой области прежде всего обусловлены чрезвычайной сложностью проблемы, а повторяемые раз за разом мошенничества с «эликсирами молодости», жертвами которых становятся миллионы людей, лишь подчеркивают готовность многих рисковать ради притягательной мечты. Важно то, что эти неудачи ни в коем случае не опровергают принципиальную возможность продления жизни и омоложения.

Возможно ли омоложение в принципе?

Мы полагаем, что проблемы омоложения и феноменального долголетия не только принципиально решаемы, но и давно разрешены, «внедрены» в практику и успешно эксплуатируются в течение миллиардов лет. К сожалению, этими процессами, которые, по всей видимости, предполагают обязательные рекомбинационные преобразования нуклеиновых кислот, пока умеет управлять только природа. Причем механизмы омоложения могут оказаться

не такими уж сложными, как нам сейчас кажется. Ведь все виды, в том числе достаточно примитивные существа, нередко владеющие минимальными ресурсами, в течение относительно короткого промежутка времени способны из уже немолодых клеток-предшественников создать новые клетки и организм с возрастом «ноль». В таких условиях маловероятно развернуть очень уж сложные преобразования. Как бы там ни было, следует еще раз подчеркнуть, что само существование жизни на Земле является простым и неопровержимым доказательством того, что старение и омоложение неразрывно связаны и равноэффективны. С одной стороны, старение таких сложных образований, как биологические системы, неизбежно; с другой, если бы существовало только старение, все живое погибло бы еще на самых ранних этапах эволюции, едва успев зародиться. Так как биологические виды до сих пор существуют и эволюционируют, значит, они изначально обладали и обладают адекватным старению аппаратом омоложения [1]. Следовательно, омоложение также реально и эффективно, как старение.

Потенциальное бессмертие дано популяции, но почему-то не особи

В такой оптимистической сентенции есть одно весьма в общем-то неприятное обстоятельство. Хотя широким набором средств антистарения и омоложения владеют практически все клетки, потенциал, достаточный для полного устранения накапливаемых во времени изменений, был обеспечен только для клеток репродуктивного пути. Иными словами, омоложение, достаточное для потенциального бессмертия, было делегировано на популяционный уровень, тогда как аналогичные возможности на уровне особи, нередко достаточно весомые, тем не менее всегда оказывались недостаточными для полного устранения последствий старения. В результате сложилась не совсем логичная и, по крайней мере, неприемлемая для «жизнелюбов» ситуация, когда потенциально бессмертная популяция всегда состоит из особей с ограниченными сроками жизни. На каком этапе эволюции и почему произошло такое «несправедливое» распределение потенциального бессмертия? Были ли когда-либо потенциально бессмертные особи и, в частности, можно ли считать таковыми первых репликаторов? Представляется уместной шутка о несправедливости того, что даже самые «вредные» популяции потенциально бессмертны, тогда как самые достойные представители популяций, напротив, всегда имеют ограниченную продолжительность жизни. Особенно обескуражи-

вающим является «жесткость» этого правила: несмотря на много-миллиардные выборки, которые находились и находятся под наблюдением человека, до сих пор не известно ни одного заслуживающего доверия исключения из этого правила.

Как бы там ни было, очевидно одно – эволюция является единственным «экспериментатором», преуспевшим при поиске средств омоложения и продления жизни. Поэтому может нам действительно нет нужды изобретать ничего сверхъестественного для обеспечения долголетия, а достаточно разобраться в сути эволюционных находок и постараться для начала их скопировать. С учетом такой позиции в настоящей работе основное внимание будет уделено выяснению влияния различных модификаций состава атмосферы на старение биологических объектов.

Рабочая гипотеза

Атмосфера Земли подвергалась существенным количественным и качественным изменениям, которые не могли не отразиться на особенности старения и продолжительность жизни. Это делает правомочным вопрос об оптимальности современной атмосферы для долголетия. Одной из хорошо документированных закономерностей геронтологии постулируется, что между интенсивностью окислительных процессов и продолжительностью жизни существует обратная коррелятивная зависимость. Действительно, при условии, что различия сроков жизни сравниваемых объектов достаточно велики (выше «шумового» порога), такие корреляции отчетливо проявляются на самых различных фило- и онтогенетических моделях [6, 9, 12]. Однако при этом важно учесть, что уровень окислительных процессов определяется не только функциональным состоянием митохондрий и системы газообмена в целом, но и газовым составом атмосферы. В сущности, состав атмосферы является таким же важным параметром, как рацион.

В самом упрощенном виде окислительные процессы могут быть представлены уравнением $S_1 + O_2 \leftrightarrow S_2 + CO_2$, где S_1 и S_2 – субстраты до и после окисления. Как известно, скорость химических реакций определяется концентрацией начальных и конечных продуктов, в частности, для окислительных процессов – парциальным давлением O_2 и CO_2 . Поэтому, варьируя парциальными давлениями различных газов, можно надеяться повлиять на уровень метаболизма и, возможно, темпы и особенности старения. В условиях целостного организма из-за многочисленных прямых и обратных связей такие зависимости могут быть искажены. Поэтому, основываясь на принципе «черного ящика», нами была выдвинута гипотеза о том, что при прочих равных условиях чем ниже

парциальное давление O_2 и выше давление CO_2 , тем ниже скорость метаболических процессов и выше продолжительность жизни [1]. При этом, по существу, допускается, что изменением состава атмосферы можно модифицировать «нагрузки» митохондрий и иных сопряженных метаболических циклов и тем самым влиять на особенности старения и сроки жизни.

Эволюционная динамика изменений состава атмосферы

Для того, чтобы учесть уже накопленный эволюцией «опыт», следует вникнуть в весьма интересную, но, к сожалению, в равной степени дискуссионную сферу знаний о происхождении жизни и атмосферы Земли. Согласно одной из наиболее привлекательных таких гипотез, первые репликаторы появились в восстановительной атмосфере РНК миров примерно 4 млрд лет назад [4]. При этом полагают, что состав атмосферы Земли постоянно подвергался существенным количественным и качественным изменениям, которые будут продолжаться и в обозримом будущем. В настоящее время выделяют три качественно разные по составу атмосферы – первичную, вторичную и третичную. Первичная атмосфера длилась с момента образования Земли как планеты и до формирования твердой коры. Полагают, что первичная атмосфера состояла преимущественно из наиболее легких и распространенных во Вселенной элементов – водорода и гелия. Вторичная атмосфера соответствовала периоду между образованием твердой коры и началом расцвета микроорганизмов, предположительно цианобактерий, обладавших фотосинтетической активностью. В результате активной вулканической деятельности вторичная атмосфера постепенно накопила значительные количества различных газов. Для нас такая атмосфера представляет особый интерес, потому что именно в ней, как полагают, зародилась жизнь. Особо следует отметить наличие во вторичной атмосфере CO_2 , CO , CH_4 , NH_3 , H_2S , N_2 и паров H_2O , которые, по-видимому, и послужили исходным материалом для образования первых биологических репликаторов. Следует отметить, что о первичной и вторичной атмосферах известно очень мало, и наши знания о них больше базируются на гипотезах, чем на фактах [15].

Значительно больше известно и, естественно, больший интерес для нас представляют данные о содержании O_2 и CO_2 в третичной (современной) атмосфере. Как уже отмечалось, начало этого периода совпадает с размножением бактерий, которые обладали фотосинтетическим аппаратом [5, 10]. Используя существовавшие тогда в изобилии CO_2 и ультрафиолетовое излучение солнца, они синтезировали необходимые для их жизнедеятельности питатель-

ные вещества, выделяя при этом в виде побочного продукта O_2 . Именно благодаря их усилиям O_2 стал вторым по распространенности элементом современной атмосферы. К слову, и в наши дни цианобактерии океана являются самыми мощными и диверсифицированными источниками продукции O_2 и продолжают вырабатывать до $3/4$ атмосферного O_2 [2, 11]. Несколько сот миллионов лет назад в результате бурного роста таких микроорганизмов и расцвета растительного мира содержание O_2 в атмосфере возросло до 35%, а потом снизилось до современного уровня (20.95%). Содержание CO_2 при этом изменялось в противоположном направлении. Этот газ был одним из самых распространенных во вторичной атмосфере и на ранних этапах третичной атмосферы, но постепенно его количество снизилось до весьма скромных 0.038 % в наши дни [15].

Является ли современная атмосфера оптимальной для долголетия?

Совершенно очевидно, что для того, чтобы выжить, первые репликаторы должны были без всяких высокоспециализированных репаративных систем устранять повреждения, которые были неизбежны в тогдашних условиях интенсивной ионизирующей и ультрафиолетовой радиации и температурных флуктуаций. Иначе говоря, шансы сохраниться в эволюции имелись только у тех репликаторов, которые обладали способностью самостоятельно и, что важно, полностью устранить неизбежно накапливаемые во времени повреждения, т.е., по существу, омолодиться. Если согласиться с таким предположением, то следует признать, что первые репликаторы могли быть потенциально бессмертными, а из такого допущения следует принципиальный вопрос о том, почему и когда произошло делегирование потенциального бессмертия только на популяционный уровень.

Атмосферные газы восстановительной природы и, в частности, H_2 , NH_3 , H_2S , CH_4 и др. могли быть важными участниками, влияющими на процессы как старения, так и омоложения. Поэтому одна из задач предпринятых нами исследований заключалась в том, чтобы разработать модели и изучить особенности развития и старения современных видов в атмосфере, газовый состав которой по возможности напоминал атмосферу в момент зарождения жизни и другие критические периоды эволюции. При обсуждении таких проблем обращают на себя внимание существенные и нередко разнонаправленные изменения содержания O_2 и CO_2 в третичной атмосфере. Так, отношение O_2/CO_2 в современной атмосфере со-

ставляет более 500:1, тогда как в начале расцвета фотосинтетических организмов должно было быть противоположное соотношение, т.е. CO_2 было на порядки больше, чем O_2 . По существующим оценкам, уровень атмосферного CO_2 тогда был более 20%, в то время как содержание O_2 было в 100000 раз меньше, чем в современной атмосфере [8]. В этой связи уместно заметить, что с учетом разнообразия энергетических потребностей и газообмена современных видов животных парциальные давления O_2 и CO_2 в их тканях в первом приближении можно считать сопоставимым, т.е. их соотношение близко к 1:1. Такое соотношение должно примерно соответствовать среднему значению O_2/CO_2 за всю третичную атмосферу. Является ли это следствием существования некоего «скрытого» периода между изменениями O_2/CO_2 атмосферы и тканей организма из-за естественной инерционности биологических систем? Каким было соотношение O_2/CO_2 на ранних этапах эволюционного развития и повлияли ли возможные изменения O_2/CO_2 атмосферы на O_2/CO_2 в клетках, а последнее – на паттерн старения и продолжительность жизни? Еще более интригующими представляются аналогичные вопросы относительно вторичной атмосферы. Ведь эта атмосфера, где зародилась биологическая жизнь и были заложены основы паритетных отношений между старением и омоложением, имела совсем иной состав.

Важно то, что периоды наиболее резких изменений состава атмосферы, известные как «кислородные катастрофы» или «кислородные взрывы», сопровождались массовой гибелью организмов, метаболизм которых, по всей видимости, не обладал достаточными приспособительными резервами и гибкостью. Очевидно, только представители таксонов, обладавших высокими адаптивными возможностями, сумели дожить до наших дней. Но даже у выживших видов такие приспособительные сдвиги, видимо, сопровождались болезненными компромиссами. Поэтому уместен вопрос: какой «ценой» далась адаптация к изменениям газового состава и является ли современная атмосфера оптимальной для выживших видов? Были ли более привлекательные с точки зрения долголетия периоды в прошлом и, если нет, то какие именно экспериментальные модификации атмосферы могут обеспечить такие условия? Более того, мы вынашиваем амбициозные планы изучить особенности старения и долголетия современных видов в атмосферах, которые по возможности близки по газовому составу к атмосферам в момент зарождения жизни и другие критические периоды эволюции живого, а также в условиях ожидаемых изменений.

Искусственная атмосфера

Актуальность такой постановки проблемы подкрепляется еще и тем, что в последние десятилетия население развитых стран мира стало проводить значительную часть времени в условиях кондиционированного воздуха, т.е. атмосферы, оптимизированной по различным физическим характеристикам – температуре, влажности, количеству и составу заряженных ионов и твердых частиц. По существу, человечество уже начало активно применять искусственную атмосферу как основную среду обитания. Однако используемые до сих пор модификации относятся в основном к физическим характеристикам атмосферы, которые, по всей вероятности, не могут оказать столь существенное влияние на основополагающие процессы старения и долголетия, как газовый состав. Мы надеемся, что с помощью даже малоэффективного метода «проб и ошибок» удастся подобрать условия, которые приведут к снижению интенсивности метаболизма и/или оптимизации связей между различными циклами обменных процессов с последующим увеличением сроков жизни.

Ниже вкратце обсуждены результаты наших опытов на дрозофилах по изучению влияния различных модификаций состава атмосферы на развитие, газообмен, продолжительность жизни и жизнеспособность в стрессорных условиях.

Материал и методы

Учитывая хорошо известные преимущества дрозофил как удобного объекта в скрининговых и геронтологических исследованиях, экспериментальный поиск оптимального для долголетия состава атмосферы было решено начать с моделей развивающихся личинок и молодых (1-5 сут.) или зрелых (примерно 40 сут.) имаго дрозофил. Подопытных мух содержали в пробирках на стандартной питательной среде и температуре инкубации (25 °C). Искусственную атмосферу моделировали с помощью помещения пробирок с дрозофилами в 100 мл шприцы, в которые добавляли необходимое количество O₂ (гипероксия), CO₂ (гиперкапния) и N₂ или иные газы (гипоксия). Питательную среду и газовый состав обновляли через день. Обычно такая процедура занимала 30-60 мин. Следует отметить еще одну особенность постановки наших опытов: за двое суток между сменами пищи и атмосферы мухи и микроорганизмы среды успевали «надышать» до 5% CO₂, так что во всех испытанных популяциях, включая контрольные, имела место легкая гиперкапния. Учет этого момента особенно важен в прямых опытах по гиперкапнии, во время которых имело место

естественное накладывание исходной (экспериментальной) гиперкапнии с CO_2 , выработанного в шприцах. Как показали прямые измерения содержания CO_2 , реальные значения гиперкапнии обычно были на несколько процентов выше, чем это указано в описании представленного иллюстративного материала.

Важно было установить не только возможности продления жизни, но и изменения жизнеспособности организма. Для этого мы оценивали спонтанную двигательную активность (с помощью повторных фотографирований с определенной экспозицией), а также предельные адаптивные возможности организма, используя тест-системы, которые позволяют определить выживаемость в стрессорных условиях. Была разработана батарея из 10 специфических тестов, которая, в частности, включала определение выживаемости после теплового шока (30 мин. при 38°C); окислительного стресса, моделированного помещением мух в атмосферу со 100% O_2 или добавлением 3% H_2O_2 к питательной среде; способность поддерживать кислотно-щелочное равновесие оценивали по выживаемости и рН гомогенатов мух, содержащихся на кислых или щелочных питательных средах, и др.

Водород

Как уже отмечалось, первичная атмосфера состояла в основном из водорода, содержание которого постепенно снижалось по мере его диффузии за пределы гравитационного поля Земли и реакции с другими соединениями, а также увеличения доли других выбрасываемых в атмосферу газов. Уникальная восстановительная природа такой атмосферы могла стать важным детерминантом, как самого процесса зарождения жизни, так и обеспечения необходимого паритета между старением и омоложением. Результаты, полученные нами при содержании дрозофил в атмосфере с различным содержанием H_2 , свидетельствуют о том, что динамика развития и выживаемость личинок дрозофил сохраняются в широком диапазоне концентраций H_2 (до 50-60%). Для сравнения, в современной атмосфере доля H_2 меньше $10^{-4}\%$. Эти данные, а также ряд других результатов наших исследований не противоречат гипотезе о том, что у современных видов имеется своеобразная «атмосферная память» – уровни газов, к которым выработалась адаптация на ранних этапах эволюции, сохраняются у видов, которые в течение многих миллионов лет живут в атмосферах иного состава.

Для нас H_2 представляет особый интерес не только потому, что он самый легкий и распространенный элемент во Вселенной и,

являясь одним из главных компонентов первичной и вторичной атмосфер Земли и иных планет, мог каким-то образом быть причастен к зарождению жизни на Земле или за ее пределами. Дело в том, что более 20 лет назад было высказано предположение о том, что H_2 , вырабатываемый в достаточно больших количествах микроорганизмами кишечника при утилизации непереваренных углеводов и волокнистых продуктов, может выполнить роль мощного антиоксиданта [10]. Действительно, в норме выдыхаемый человеком воздух содержит примерно в 40 раз больше H_2 , чем вдыхаемый, а после потребления, например, молока этот показатель растет еще примерно в четыре раза [14]. Диссоциация H_2 в тканях приводит к образованию атома $H\cdot$ с неспаренным электроном, который может участвовать в гашении свободных радикалов. Выяснилось, что H_2 является антиоксидантом с уникальными свойствами. Так, H_2 в отличие от подавляющего большинства других антиоксидантов не токсичен и, что очень важно, не имеет реальных барьеров в биологических системах. Он легко диффундирует во все ткани и субклеточные структуры, включая митохондрии и пероксисомы, где происходит наиболее интенсивное образование свободных радикалов. Более того, H_2 специфически «гасит» только самый агрессивный из радикалов – гидроксил радикал ($OH\cdot$), практически не влияя на уровень функционально важных радикалов, например, NO [13]. У H_2 есть еще одно весьма примечательное свойство. Как известно, стрессы, нагрузки и старение сопровождаются смещением окислительно-восстановительного равновесия в сторону накопления промежуточных продуктов неполного окисления. Как известный восстановительный агент, H_2 , по всей видимости, мог способствовать нормализации нарушенного окислительно-восстановительного равновесия. Если к этому еще добавить, что с помощью H_2 можно моделировать мягкую гипоксию с последующим возможным замедлением интенсивности метаболических процессов, то станут очевидными уникальные лечебные и геропротекторные возможности этого элемента [7, 14]. Еще больше надежд, правда, если бы не высокая токсичность, можно было связать с повышением содержания NH_3 , H_2S и особенно с различными комбинациями указанных газов, над изучением которых мы сейчас работаем.

Гелий

Содержание He, второго за водородом элемента по распространенности во Вселенной и атмосфере Земли на самых ранних этапах зарождения жизни, в современной атмосфере составляет только 0.0005%. Несмотря на то, что современные виды уже несколь-

ко миллиардов лет живут при низком уровне Ne , в наших опытах дрозофилы легко приспосабливались и нормально размножались и старели в атмосферах с содержанием Ne до 80%. При изучении влияния Ne на продолжительность жизни имаго дрозофил были испытаны три концентрации, которые поддерживались на стабильном уровне в течение всей жизни (5, 20 и 33% Ne). Кроме того, были изучены две группы животных, содержание Ne в атмосфере которых линейно увеличивали от 0 до 80% (из расчета 1% в день) или, напротив, снижали с 80% до 0 с такой же скоростью. Оказалось, что испытанные постоянные уровни Ne существенно не влияли на динамику выживаемости дрозофил. В группах же с переменными концентрациями в первой половине экспериментов смертность была наиболее высокая в группе с ниспадающими концентрациями, тогда как начиная со второй половины (примерно 40-50 сут.) дрозофилы, содержащиеся при возрастающих концентрациях, вымирали быстрее, в то время как в группе со снижающимся содержанием Ne , напротив, смертность становилась заметно ниже (рис. 1).

Более того, именно в этой группе были зафиксированы мухи «стодневки» (по аналогии со столетними людьми), что не исключает участие аналогичного механизма при определении повышенной доли долгожителей в горных регионах.

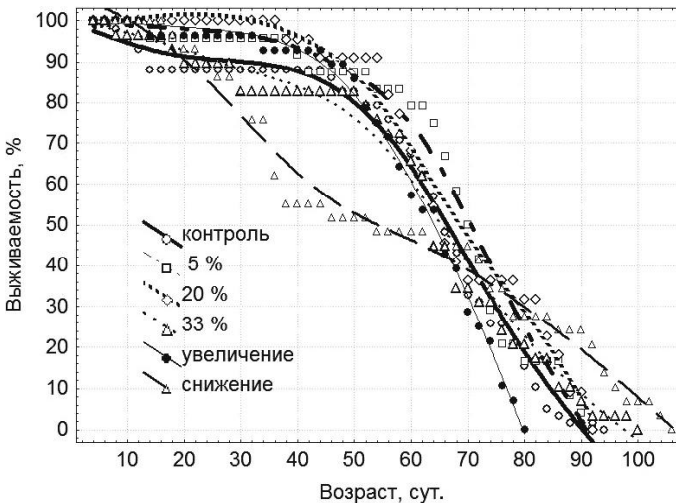


Рис. 1. Влияние разных концентраций гелия в воздухе на возрастную динамику выживаемости имаго дрозофил.

Влияние гипероксии

на возрастную динамику выживаемости и газообмен

В опытах, проведенных в широком диапазоне концентраций добавленного O_2 (от 0 до 100%), в целом была обнаружена обратная зависимость между уровнем O_2 и продолжительностью жизни, т.е. повышение содержания O_2 приводило к сокращению сроков жизни (рис. 2А).

Ни одна из испытанных моделей гипероксии не приводила к продлению жизни. Однако обращает на себя внимание тот факт, что в довольно широком диапазоне умеренная гипероксия вызывает лишь незначительное сокращение сроков жизни. Лишь при высоких концентрациях O_2 (40% и более) наблюдается очевидное ускорение вымирания. До 30-35% повышение содержания O_2 не приводило к заметному изменению возрастной динамики выживаемости. Если учесть, что 200-300 млн лет назад содержание O_2 в атмосфере равнялось 35% [3, 5], то можно допустить, что до этой эволюционно «знакомой» границы дрозофилы переносят гипероксию без существенного ускорения темпов старения. Только последующее повышение содержания O_2 за эту некогда «привычную» границу сопряжено с заметными отрицательными последствиями для долголетия (рис. 2А).

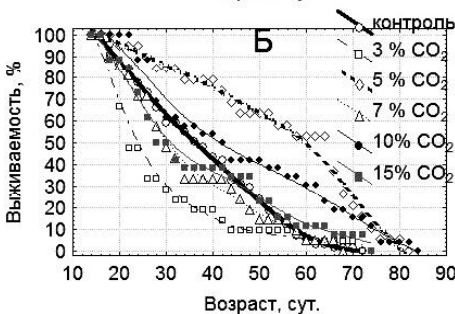
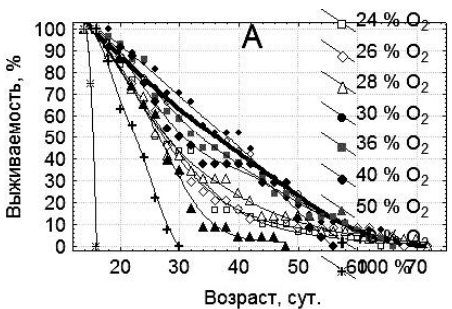


Рис. 2. Влияние гипероксии (А) и гиперкапнии (Б) на возрастную динамику выживаемости имаго дрозофил.

сужению без существенного ускорения темпов старения. Только последующее повышение содержания O_2 за эту некогда «привычную» границу сопряжено с заметными отрицательными последствиями для долголетия (рис. 2А).

В диапазоне до примерно 30-35% O_2 не было обнаружено также очевидной пропорциональности между O_2 и газообменом (данные не представлены). Анализ возрастной динамики интенсивности метаболизма свидетельствует о том, что до определенной границы нет зависимости между содержанием O_2 и V_{CO_2} . Более того, оказалось, что популяции, содержащиеся при 45 и 60% O_2 , до определенного возраста также в состоянии поддержать уровень метаболизма, характер-

ный для контрольных животных. Только начиная с некоторого, видимо, критического возраста, когда механизмы внутреннего гомеостата, по видимому, уже не в состоянии противостоять внешнему натиску, наблюдается вспышка газообмена, и подопытные животные буквально «сгорают» в атмосфере с высоким содержанием O_2 .

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что повышение содержания O_2 в атмосфере до 35% может быть не сопряжено с существенным усилением окислительного и иных возможных стрессов. Они не противоречат возможности того, что у современных животных сохранилась «атмосферная память» о периоде, когда содержание O_2 атмосферы достигало 35%.

Влияние гиперкапнии на возрастную динамику выживания и газообмен

Опыты по моделированию гиперкапнии показали, что дрозофилы могут переносить нагрузки до 15-20% CO_2 (рис. 2Б). Более того, именно в опытах по гиперкапнии были обнаружены наиболее существенные сдвиги по продлению жизни. Правда, при этом обращает на себя внимание то, что подопытные животные существенно превосходят контрольных только по средним показателям продолжительности жизни, например, по моменту 50%-ной смертности, но не по максимальным срокам жизни. Очевидно, старые животные хуже переносят гиперкапнические нагрузки, чем молодые особи (рис. 2Б).

Судя по возрастной динамике скорости потребления кислорода (Vo_2), содержание дрозофил в атмосфере с повышенным содержанием CO_2 приводило к заметному снижению интенсивности окислительных процессов, что может объяснить более выраженный эффект продления жизни при таком воздействии, хотя и здесь не наблюдается простой линейной зависимости между Vo_2 и сроками жизни. Следует также отметить, что, как и в случае указанных выше газов, нетоксичные концентрации CO_2 примерно соответствуют «знакомым» по эволюции уровням, которые имели место, например, в начале третичной атмосферы. Поэтому полученные данные также не исключают возможность сохранения «атмосферной памяти» по CO_2 . При этом нельзя не обратить внимание на то, что при умеренном повышении CO_2 или мягкой гипоксии наблюдается замедление возрастной динамики смертности и продление жизни. Не свидетельствует ли это в пользу предположения о том, что начальные этапы третичной атмосферы, когда содержание CO_2 было выше, а O_2 ниже, чем сейчас, были более благоприятными для долголетия?

Гипероксия, гипоксия и гиперкапния,

моделированная на долгоживущих популяциях дрозофил

Известно, что продолжительность жизни дрозофил, содержащихся в стабильных лабораторных условиях, тем не менее, подвержена существенным колебаниям, которые не всегда можно объяснить только сезонными отличиями. В описанных выше опытах популяции испытанных дрозофил не отличались долголетием. Поэтому было решено провести повторные исследования по изучению влияния гиперкапнии, гипер- и гипоксии на выживаемость долгоживущих популяций дрозофил. В целом, результаты повторных опытов подтвердили выводы предыдущих исследований. Так, «мягкая» гиперкапния (рис. 3А) приводила к некоторому росту средней, но не максимальной продолжительности жизни, а аналогичные воздействия с гипер- и гипоксией существенно не повлияли на выживаемость

(рис. 3Б и 3В).

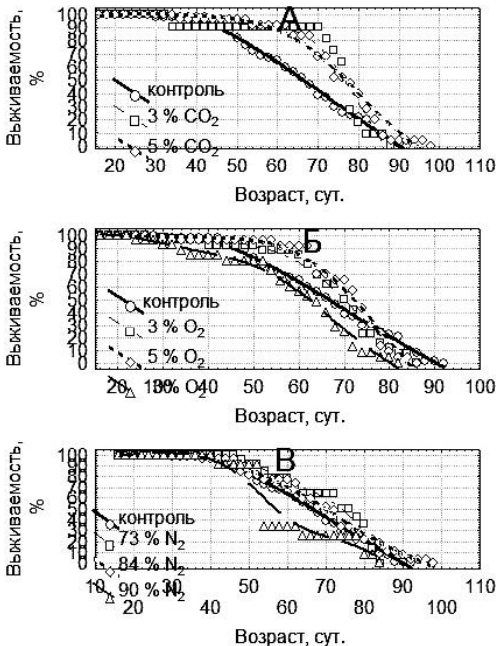


Рис. 3. Влияние гиперкапнии (А), гипероксии (Б) и гипоксии, моделированной увеличением содержания N₂ в воздухе (В), на возрастную динамику выживаемости долгоживущей популяции дрозофил.

Гипероксия, гипоксия и гиперкапния, начатые с 40-суточного возраста

В указанных выше экспериментах влияние модифицированной атмосферы было изучено начиная с ранних возрастов. С прикладной точки зрения такая постановка проблемы представляется менее привлекательной, потому что вряд ли в ближайшее время кто-либо отважится ставить опыты по продлению жизни начиная с младшего возраста. Поэтому с практической точки зрения больший интерес представляли опыты, в которых воздействия по гипероксии, гипоксии и гиперкапнии были начаты со зрелых возрастов. Кривые выживания имаго

дрозофил, которые были подвергнуты влиянию различных модифицированных по составу атмосфер, начиная с 40-суточного возраста, представлены на рис. 4.

Из представленных данных следует, что мягкая гиперкапния как и в опытах, начатых с молодого возраста (см. рис. 2Б), приводит к некоторому росту средней, но не максимальной продолжительности жизни (рис. 4А). При гипоксии, напротив, на фоне сравнительно небольших отличий средних величин было обнаружено заметное увеличение максимальной продолжительности жизни до 110 сут. (рис. 4Б), а гипероксия не вызвала существенных изменений динамики выживаемости (рис. 4В).

В этой серии опытов впервые было изучено влияние добавления 5 и 20% CH_4 к атмосфере подопытных мух. Предполагалось, что такое воздействие может, с одной стороны, моделировать гипоксию, а с другой, вызвать специфические для этого газа реакции. К сожалению, мы не обнаружили практически никаких следов влияния CH_4 атмосферы на выживаемость дрозидов (рис. 4Г).

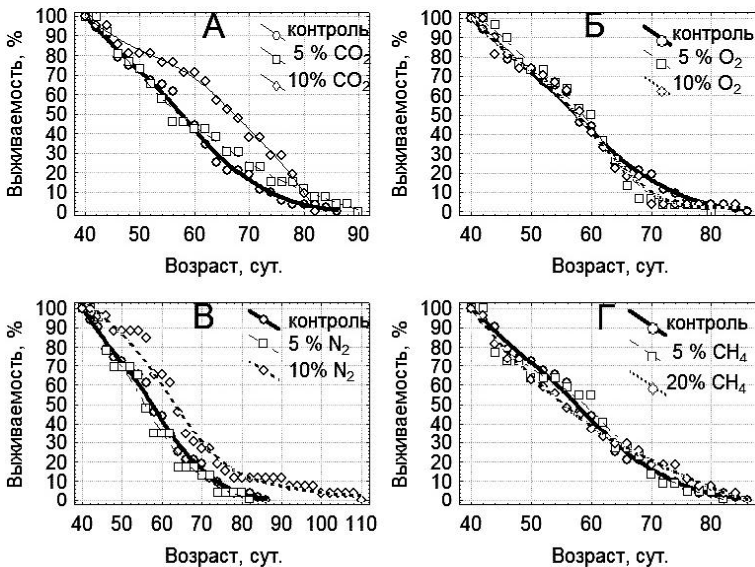


Рис. 4. Влияние гиперкапнии (А), гипероксии (Б) и гипоксии, моделируемой увеличением содержания N_2 (В) или добавлением CH_4 (Г), на возрастную динамику выживаемости имаго дрозидов при начале воздействий с 40-суточного возраста.

В целом, проведенные опыты по изучению влияния атмосферы с разным содержанием CO_2 и O_2 свидетельствуют о том, что повышение содержания O_2 начиная с определенных величин сокращает, а понижение O_2 удлиняет продолжительность жизни имаго дрозофил. При этом продление жизни при гиперкапнии выше, чем при соизмеримом уровне гипоксии, моделированной N_2 , что может свидетельствовать о самостоятельных «каналах» реализации геропротекторного эффекта CO_2 .

Влияние газового состава атмосферы на жизнеспособность дрозофил в условиях тест-стрессов

В опытах по поиску средств продления жизни важно установить не только факт простого роста промежутка времени между рождением и смертью, но и увеличение активного периода жизни и того, какой «ценой» дается увеличение сроков жизни. В частности, такую оценку у дрозофил можно провести с помощью измерения спонтанной двигательной активности, газообмена, потребления пищи, возрастной динамики репродуктивной функции и др. Приемлемыми тест-системами максимальных функциональных возможностей организма могут быть также оценки выживаемости в различных по «мишени» стрессорных условиях. Полагают, что темпы старения и жизнеспособность в стрессовых условиях, по всей видимости, должны иметь немало общих детерминантов. Поэтому, между этими параметрами следовало ожидать существование положительной коррелятивной зависимости. В частности, воздействия, вызывающие продление жизни, по идее должны были приводить к повышению выживаемости в стрессорных условиях и напротив. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что на самом деле если такая зависимость и существует, то она, во-первых, зависит от природы стресса и, во-вторых, от нее много исключений. Так, после 6 сут. преинкубации в условиях гипероксии (30% O_2) или гиперкапнии (10% CO_2) нами было обнаружено существенное ($P < 0.01$) повышение выживаемости молодых имаго после теплового шока или окислительного стресса, но не при содержании на кислых или щелочных средах. Обращает на себя внимание то, что дрозофилы, преадаптированные к условиям гипоксии добавлением 20% CH_4 , достоверно не отличались, а особи, преадаптированные к гипоксии, созданной с помощью 20% N_2 , имели несколько меньшую выживаемость, чем контрольные мухи в условиях теплового шока.

Заключение

Обобщая, хотелось еще раз подчеркнуть, что наравне с питанием газообмен является необходимым составляющим и, возможно, регулятором метаболизма. Более того, O_2 является чуть ли не самым критически важным продуктом, и без него большинство видов животных может прожить лишь считанные минуты. Это дает основание надеяться на то, что изменения газового состава атмосферы приведут к целенаправленной модуляции переменных, непосредственно связанных с жизнеспособностью и старением. Несмотря на то, что полученные нами результаты свидетельствуют о том, что зависимость между долголетием и газовым составом атмосферы может быть далекой от простой линейности, тем не менее, эффективность таких решений и особенно прикладные преимущества этого подхода очевидны. В сущности, технически человечество уже несколько столетий готово для реализации таких идей, и можно только удивляться, почему соответствующие решения так задержались. Важно заметить, что мы возлагаем определенные надежды не только и не столько на изучение традиционно известных моделей гипоксии и гиперкапнии, сколько на «экзотические» и до сих пор недостаточно изученные модификации состава атмосферы с помощью H_2 , NH_3 , H_2S , инертных газов и др. Ведь продление жизни – редкий и экстраординарный феномен, реализация которого, вполне возможно, предполагает использование воздействия столь же экзотической природы. Интригующие результаты могут быть получены при тестировании на современных видах атмосфер, состав которых по возможности ближе к таковым в момент зарождения жизни и в иные критические периоды эволюции живого. При этом круг затрагиваемых вопросов таков, что позволяет не упустить из поля зрения другие принципиальные проблемы. В частности, стремясь выяснить особенности старения и долголетия в условиях вторичной атмосферы, где зародилась жизнь и формировались основы отношений между старением и омоложением, следует еще и еще раз вернуться к извечным и принципиальным для долголетия вопросам:

1. Почему популяция потенциально бессмертна, а особь всегда имеет ограниченный потенциал долголетия? Что помешало применить уже найденные решения потенциального бессмертия на обоих уровнях?
2. Какие факторы повлияли на принятие такого решения и входили ли в их число характеристики атмосферы?
3. Было ли делегирование потенциального бессмертия только на популяционный уровень единственным выбором эволюции или

здесь сохраняются почему-то не использованные обходные пути, которые могли обеспечить потенциальное бессмертие и для особи?

Действительно, если механизмы, которые обеспечивают потенциальное бессмертие, были разработаны и успешно функционировали на уровне популяции, почему они не были использованы и на индивидуальном уровне? Ведь возможно большее продление жизни зрелой особи, уже накопившей необходимые навыки и прошедшей самые опасные этапы приспособления к своему окружению, обеспечило бы неоспоримые преимущества в борьбе за существование. В любом случае ограниченность продолжительности жизни особи представляется самой «трагической недоработкой» эволюции и потому «горячей точкой» геронтологии. Хотелось верить в то, что нет принципиальных ограничений и необходимости делегирования потенциального бессмертия только на популяционный уровень и вскоре будут найдены иные решения этой проблемы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Мурадян Х.К.* Искусственная атмосфера, омоложение и долголетие // Проблемы старения и долголетия, 2008. Вып. 17, № 4. С. 457-477.
2. *Bekker A., Holland H.D., Wang P.L.* et al. Dating the rise of atmospheric oxygen // *Nature*, 2004. Вып. 427, № 6970. P. 117-120.
3. *Dismukes G.C., Klimov V.V., Baranov S.V., Kozlov Y.N., DasGupta J., Tyryshkin A.* The origin of atmospheric oxygen on Earth: the innovation of oxygenic photosynthesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2001. Vol. 98, № 5. P. 2170-2175.
4. *Gilbert W.* The RNA world // *Nature*, 1986. Vol. 319. P. 618.
5. *Fike D.A., Grotzinger J.P., Pratt L.M., Summons R.E.* Oxidation in the Ediacaran ocean // *Nature*, 2006. Vol. 444, № 7120. P. 744-747.
6. *Frolkis V.V., Muradian Kh.K.* Life span prolongation. Boca Raton: CRC Press, 1991. 425 p.
7. *Fukuda K., Asoh S., Ishikawa M.* et al. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007. Vol. 361, № 3. P. 670-674.
8. *Kasting J.F., Pavlov A.A., Siefert J.L.* A coupled ecosystem-climate model for predicting the methane concentration in the Archean atmosphere // *Orig. Life Evol. Biosphere*, 2001. Vol. 31. P. 271-285.
9. *Lehman G., Segal E., Muradian K., Fraifeld V.* Do mitochondrial DNA and metabolic rate complement each other in determination of the mammalian maximum longevity? // *Rejuvenation Res.*, 2008. Vol. 11. P. 409-417.
10. *Neale R.J.* Dietary fibre and health: the role of hydrogen production // *Med. Hypotheses*, 1988. Vol. 1. P. 85-87.
11. *Paumann M., Regelsberger G., Obinger C., Peschek G.A.* The bioenergetic role of dioxygen and the terminal oxidase(s) in cyanobacteria // *Biochim. Biophys. Acta*, 2005. Vol. 1707, № (2-3). P. 231-253.

12. *Speakman J.R.* Body size, energy metabolism and lifespan // *J. Exp. Biol.*, 2005. Vol. 208, № 9. P. 1717-1730.

13. *Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K.K., Watanabe M., Nishimaki K., Yamagata K., Katsura K., Katayama Y., Asoh S., Ohta S.* Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals // *Nat. Med.*, 2007. Vol. 6. P. 688-694.

14. *Shimouchi A., Nose K., Yamaguchi M.* et al. Breath hydrogen produced by ingestion of commercial hydrogen water or milk // *Biomarker Insight.*, 2009. Vol. 4. P. 27-32.

15. *Walker J.C.* Carbon dioxide on the early earth // *Orig. Life Evol. Biosph.*, 1985. Vol. 16. P. 117-127.

Atmosphere, evolution, rejuvenation and life span extension

Kh.K. Muradian, A.N. Timchenko

Institute of Gerontology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine,
Kiev, Ukraine

Evolution of living beings during billions of years indicates relative parity between aging and rejuvenation, i.e. their ability to undergo both time-associated impairments and recovery. Unfortunately, complete recovery from the «time load» was guaranteed only for the germ cells, thus delegating potential immortality only to the level of populations, whereas an individual has always been mortal. When and why such «unfair» distribution of potential immortality occurred? Why could not the discovered tools be used at the both levels? Whatever the answers, it seems a «tragic mistake» of evolution provoking adequate research «hot-points». Historically, the Earth atmosphere underwent significant quantitative and qualitative alterations, and living systems could hardly escape painful adaptations. Is than the modern atmosphere optimal for longevity? Experiments were performed on drosophila kept in atmospheres modified by application of different portions of O₂, CO₂, N₂, H₂, CH₄, He and Ar. In general, data received support the well-known negative relation between the rate of metabolism and life span, although there was a significant component of specificity of the gases used for modifications. In optimal concentrations, certain stimulation was observed in the growth rate and survival of larvae, in survival of adult imagoes at different stress-tests, as well as in their gaseous exchange rate and spontaneous motor activity. The most pronounced life span extending effects were observed at hypercapnia. All in all, the data do not exclude a possibility of «atmospheric memory», i.e. adaptability of modern species to gaseous compositions of the ancient atmospheres, by the way, often more favorable for the longevity than the modern ones.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЫМИРАНИЯ КОГОРТ И ИХ НАСЛЕДУЕМОСТЬ

С.В. Мыльников

Санкт-Петербургский государственный университет,
г. Санкт-Петербург, Россия

Существует множество определений понятия старение.

Старение – последовательное приближение старости, т.е. периода в индивидуальном развитии, наступающего после периода зрелости и сопровождающегося в той или иной мере угасанием жизненных функций организма. Старение – закономерно наступающий процесс, следствие непрерывных биологических изменений, составляющих процесс жизни (БСЭ, 1957).

Как видно, в данном случае одно понятие определяется через серию других, также требующих объяснений. Так, возрастные рамки старости и зрелости в каждой популяции свои и зависят они отнюдь не от средней продолжительности жизни.

Старение – закономерный разрушительный процесс возрастных изменений организма, ведущий к снижению его адаптационных возможностей, увеличению вероятности смерти. Видовая и индивидуальная продолжительность жизни определяется сложным взаимодействием процессов старения и процессов, направленных на стабилизацию жизнеспособности организма, увеличение продолжительности жизни [1].

Анализируя это определение, следует вспомнить о понятии вероятность. В результате любого испытания возможно от одного до несколько исходов. В результате испытания происходит событие, которому приписывают его вероятность. Все события делятся на невозможные (вероятность которых равна нулю), достоверные (вероятность которых равна единице) и случайные ($0 < P < 1$). Смерть, очевидно, является единственным достоверным биологическим событием, потому ее вероятность постоянна и равна единице.

П. Медавар [22] считал, что старение можно определить как «изменение физических функций, чувствительности и энергии с возрастом, которое постепенно увеличивает вероятность смерти индивидуума от привходящих, случайных причин». Про вероятность смерти мы уже говорили. Что касается второй части определения, то смерть всегда наступает от конкретной причины (болезнь, травма, убийство и т.д.). Вероятности этих событий больше нуля, но меньше единицы, а значит, все они относятся к случайным событиям, и вторая часть определения является тавтологией.

Старение – это развивающийся во времени процесс, который ведет к утрате организмом присущей ему способности (эндогенные факторы) легко преодолевать стресс, связанный с влиянием окружающей среды (экзогенные факторы) [10]. Это определение дано демографом и математиком и, в принципе, позволяет искать количественную меру «утраты способности организмом».

Л. Хейфлик [13] приводит следующее рассуждение: «Ясно, что события, которые ведут к дожитию животных до репродуктивного успеха, детерминированы генетически. Поэтому выживание животных за этим пределом лишь косвенно определяется геномом. Состояние жизни после репродуктивного успеха можно рассматривать как период «движения по течению» или «по инерции». Иными словами, процесс развития закончен, и способность поддержания таких систем снижается. Длительность этого пострепродуктивного периода плюс время достижения половой зрелости можно рассматривать как две составляющие долголетия животного».

События, происходящие после репродуктивного успеха, не направленные на поддержание систем, должны называться старением».

Это определение также открывает возможность количественной оценки старения, однако все измерения (оценки) должны быть проведены после завершения репродуктивного периода.

Есть еще одна чисто языковая трудность. В английском языке старение обозначается двумя словами: *aging* – старение как увеличение возраста, и *senescence* – старение как одряхление. В русском языке отсутствие такого разграничения приводит к путанице. Но и употребление английского термина *genetics of aging* вызывает сомнения. Поскольку трудно представить себе генетический контроль увеличения возраста.

В течение длительного периода времени в экспериментах по определению продолжительности жизни лабораторных животных рассчитывали такие показатели, как средняя продолжительность жизни (СПЖ), продолжительность жизни 90% когорты; время смерти последней особи в когорте (иногда этот показатель называли «максимальной продолжительностью жизни»); некоторые другие параметры.

Эти показатели имеют следующие недостатки.

Распределение индивидуальной продолжительности жизни в большинстве случаев не аппроксимируется Гауссовым и, соответственно, расчет средней продолжительности жизни и стандартной ошибки не имеет смысла из-за некорректности применения параметрических методов сравнения (*t*-критерий Стьюдента).

Расчет показателя «максимальная продолжительность жизни» требует указания конкретной цифры. Одним из первых на это обстоятельство обратил внимание математик В. Феллер. Он писал: «А право же предположение о том, что можно прожить X лет, но нельзя прожить X лет и две секунды ничуть не привлекательнее, чем представление об отсутствии границы для продолжительности жизни» [12, с. 24-25].

Австрийский эколог Г. Коли считал, что «потенциальная продолжительность жизни это в корне неправильная концепция. Она должна быть заменена вероятностным утверждением. Животные не живут бесконечно долго не потому, что они не могут преодолеть некоторый пороговый возраст, а потому, что вероятность его преодоления при постоянном риске гибели становится исчезающе малой. Данное утверждение не следует рассматривать как дань математической софистике. По-видимому, это более точная аппроксимация для биологической реальности, чем модель, включающая понятие порогового возраста» [7].

Общепринятым является утверждение, что интенсивность смертности растет по закону, который в 1825 г. вывел английский страховой агент Б. Гомперц [17]. Закон оказался справедлив для крыс, лошадей, мышей, дрозофилы, головной вши и нематоды. Закон описывает зависимость интенсивности смертности от возраста.

$$\mu_t = R_0 e^{\alpha t}.$$

Но у человека часть смертей наступает независимо от возраста (катастрофы, несчастные случаи, заболевания).

Поэтому в 1860 г. У. Мейкем добавил в закон слагаемое, независимое от возраста [21].

$$\mu_t = A + R_0 e^{\alpha t}.$$

При этом считают, что в лабораторных условиях этим параметром можно пренебречь, что неочевидно.

Интенсивность смертности в момент времени x определяют по формуле:

$$\mu(x) = \frac{1}{2\Delta x} \ln \frac{l(x - \Delta x)}{l(x + \Delta x)},$$

где $\mu(x)$ – интенсивность смертности в возрасте x , Δx – интервал измерения смертности, $l(x)$ – число живых особей к данному возрасту [24, 25].

Анализ исторической динамики компонент смертности привел к неожиданному открытию. Впервые оно было сделано при анализе смертности в Швеции в XX в. Выяснилось, что фоновая компонента смертности с 1901 по 1983 г. снизилась более чем в 10 раз, а возрастная не изменилась. То же самое было установлено для 16 стран Европы. Значит, все снижение смертности и увеличение СПЖ в XX в. произошло за счет снижения фоновой компоненты смертности [3].

Рисунки с нанесенными на них значениями параметров Гомперца в разных странах Европы напоминают карты распределения частот аллелей в популяциях человека. Соответственно, можно предполагать, что именно параметры Гомперца имеют строгую наследственную детерминацию. В таком случае становится понятным, почему оценки наследуемости показателя «средняя продолжительность жизни» дают невысокие значения: 0.132-0.442 у дрозофилы [26, 28], 0.2-0.3 у нематод [19], 0.21-0.36 у мышей [27]. В одной из работ сообщалось о высокой наследуемости СПЖ (0.47-0.787) у мышей [18].

Однако достаточно часто в литературе встречаются утверждения о том, что закон Гомперца удовлетворительно выполняется лишь на части кривой смертности. Объективных критериев выбора такого возрастного интервала до сих пор не предложено. Более того, в прямых экспериментах было показано, что в больших по численности когортах дрозофил и нематод экспоненциальный рост интенсивности смертности прекращается в возрасте, который, по видимому, является видоспецифичным [14-16, 29].

Библиография споров о том, каким законом (например Гомперца или Вейбула) лучше описывать таблицы смертности, насчитывают десятки наименований [2, 20, 23, 30]. В то же время в пакетах прикладных статистических программ присутствуют разделы анализа кривых выживания, основанные на статистике Каплана-Майера, где сравнение ведут с помощью Лог-ранк теста. Этот метод был разработан для ситуаций, когда у исследователя нет времени ожидать гибели последнего из долгоживущих организмов. Более того, он чрезвычайно трудоемок для когорты, превышающих 100 особей. Анализ множества кривых дожития, полученных нами, позволил предложить иной метод расчета параметров вымирания.

Материал и методы

В биологии давно аналитически описано уравнение кривой, начинающейся от 100% и плавно снижающейся до нуля (т.е. именно так, как выглядит кривая дожития). Эта известная зависимость

доза–эффект, преобразованное для наших целей уравнение которой выглядит следующим образом:

$$Y = \frac{100}{1 + 10^{((MT_{50} - X) \times HS)}}, \quad (1)$$

где MT_{50} – время вымирания половины когорты, а HS (hill slope) – угол наклона кривой выживания. Нетрудно заметить, что параметр MT_{50} является близким аналогом средней продолжительности жизни. При этом его вычисляют методом наименьших квадратов – соответственно он является стандартным коэффициентом регрессии, и такие коэффициенты можно сравнивать с помощью F-критерия Фишера.

Параметр HS статистически оценивает наклон кривой, а значит, прямо оценивает скорость вымирания когорты и косвенно – максимальную продолжительность жизни.

Если рассматриваемая функция будет удовлетворительно описывать кривые выживания экспериментальных животных, то мы получаем корректные способы сравнения медианной (МеПЖ) продолжительности жизни. Это особенно важно, поскольку сравнение средней и максимальной продолжительности жизни контрольных и опытных вариантов необходимо при характеристике свойств потенциальных геропротекторов.

Поскольку данная кривая при увеличении возраста когорты асимптотически стремится к нулю, мы также предлагаем оценивать точку на оси X , которой соответствует значение функции (доля живых особей), равное 1%. Этот возраст мы будем называть «ожидаемой максимальной продолжительностью жизни» (ОМПЖ). Точечную и интервальные оценки этого возраста можно получить, преобразовав уравнение относительно X :

$$X = A - \frac{1}{B} \lg \left(\frac{100}{Y} - 1 \right). \quad (2)$$

Поскольку ошибки коэффициентов регрессии известны, расчет стандартной ошибки X не представляет трудности. Эта опция присутствует во многих прикладных пакетах статистических программ. Заметим также, что для точки $Y = 1\%$ логарифм в правой части приблизительно равен 2, а для точки 0.1% – 3.

Предлагаемый метод анализа позволяет корректно сравнивать кривые выживания по трем параметрам (МеПЖ, НКВЖ и ОМПЖ).

Для анализа различий в продолжительности жизни были использованы следующие наборы исходных линий *Drosophila melanogaster*:

1. Родственные линии, селекционированные на различия по половой активности самцов (HA^- , HA^+ , BA^-) [6];

2. Линия Лерик, аутбредная, не подвергавшаяся селекции линия дикого типа, поддерживаемая массово, и

3. Инбредная линия, отселектированная из популяции Лерик на повышение уровня эмбриональной смертности, инбредная, к началу эксперимента прошедшая 150 поколений отбора (*далее* – линия ВЭС) [8];

4. Линия дикого типа Canton-S, исходная для трех линий, несущих в X-хромосоме ряд температуро-чувствительных мутаций: мутацию bic^{ts155} , приводящую к повышению активности аденيلاتциклазы и двигательной активности дрозофилы (*далее* – линия 155); мутацию agn^{ts3} , приводящую к повышению активности калмодулина – белка-активатора фосфодиэстеразы (*далее* – линия 398); мутацию $pde-I^{ts66}$, приводящую к потере активности фосфодиэстеразы, нарушениям гео- и фототаксисов (*далее* – линия 66) [9].

5. Изогенные комбинированные линии (*далее* 1-8 и А-Н), созданные на основе исходных.

Исходное количество мух в течение первых шести часов после вылета подвергали эфирной наркотизации и размещали по индивидуальным стеклянным стаканчикам (от пяти до 10 виргинных самок и самцов в каждом). Культурам присваивали индивидуальные номера.

В дальнейшем регулярно производили визуальный подсчет умерших особей отдельно в каждом стаканчике без эфирной наркотизации после чего оставшихся в живых мух переносили на свежую среду, сохраняя при этом порядковый номер стаканчика. Объем каждой когорты составлял от 100 до 500 особей. Эксперимент считался законченным со смертью последней мухи каждого варианта.

Затем полученные сведения заносили в исходные таблицы смертности и эти таблицы использовали для статистической обработки полученных результатов.

Рассчитывали следующие параметры:

1. Медиану кривой выживания – как MT_{50} в уравнении 1;
2. Наклон кривой выживания – как HS – hill slope в том же уравнении;
3. Ожидаемую максимальную продолжительность жизни (уравнение 2);
4. Скорость старения – как параметр G в уравнении Гомперца (Gomperts slope);

Параметры уравнений оценивали методом нелинейного регрессионного анализа.

Коэффициенты регрессии сравнивали с помощью F-критерия Фишера.

Наследуемость признака оценивали через коэффициент внутриклассовой корреляции r_w , рассчитанный по результатам однофакторного дисперсионного анализа [5 с. 180], где:

$$s_e^2 = MS_w \quad (\text{средовая дисперсия});$$

$$r_w = \frac{s_a^2}{(s_a^2 + s_e^2)} \quad s_a^2 = \frac{1}{l}(MS_b - MS_w) \quad (\text{аддитивная дисперсия});$$

$$l = \frac{1}{k-1} \left(N - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^k n_i^2 \right)$$

(k – число выборок, N – общее число наблюдений, n_i – объем выборки с номером i).

Доверительный интервал для r_w рассчитывали по формуле:

$$\frac{F_3 - F_m''}{F_3 + (k-1)F_m''} \leq \rho_w \leq \frac{F_3 - 1/F_m'}{F_3 + 1/[(k-1)F_m']},$$

где

$$F_m' = F_{\alpha/2}(N - k; k - 1)$$

$$F_m'' = F_{\alpha/2}(k - 1; N - k).$$

Статистические решения принимались на 1% -ном уровне значимости [4, 5, 11].

Результаты

На рис. 1 представлены результаты одного из экспериментов по аппроксимации кривой выживания рассматриваемой функцией.

Сравнение накопленных частот по критерию Колмогорова-Смирнова (рис. 2) показало, что коэффициент детерминации модели доза–эффект статистически значимо превышает коэффициент детерминации для модели Гомперца. Таким образом, модель доза–эффект выглядит предпочтительной при анализе кривых смертности.

В табл. 1 представлены сводные данные анализа наследования медианной продолжительности жизни и наклона кривой выживания. Тип наследования определяли по вкладу фактора в общую изменчивость.

Можно выделить две основные закономерности. В комплексах скрещиваний Canton-S×155, Canton-S×398, Canton-S×66 основной вклад в определение медианной продолжительности жизни вносит отцовский фактор. В комплексе скрещиваний ВЭС×Лерик основной вклад вносят межполовые различия. Общее свойство трех первых комплексов скрещиваний заключается в том, что в нем участвуют линии, полученные на основе линии Canton-S, содер-

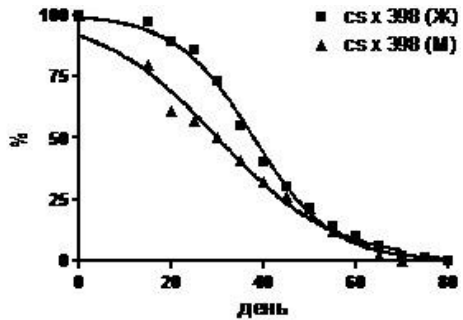


Рис. 1. Регрессионные кривые выживания гибридов между линиями Canton-S и 398. М – самцы, Ж – самки.

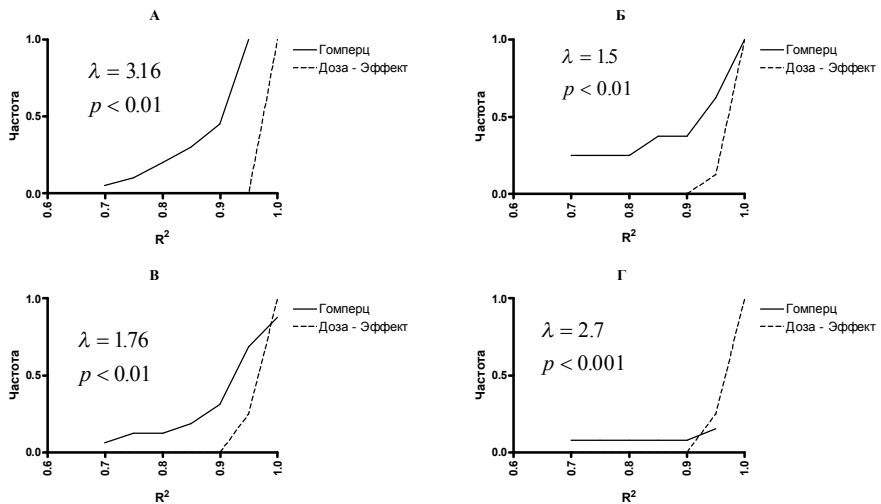


Рис. 2. Графики накопленных частот коэффициентов детерминации для моделей Гомперца и доза-эффект. А – комплекс линий Canton-S, 66, 155, 398 и их гибридов, Б – линии ВЭС, Лерик и их гибриды, В – изогенные линии 1-8, Г – изогенные линии А-Н.

По оси абсцисс – коэффициент детерминации, по оси ординат – накопленные частоты.

Таблица 1

**Структура изменчивости медианной продолжительности жизни
в разных комплексах скрещивания**

Источник изменчивости (фактор)	Комплексы скрещиваний							
	Canton-Sx155		Canton-Sx398		Canton-Sx66		ВЭСxЛерик	
	%	P	%	P	%	P	%	P
Мать	0.4	0.12	0.5	0.17	0	0.97	12	<0.001
Отец	44	<0.001	12.1	<0.001	33	<0.001	1.4	<0.001
Пол	2.3	<0.001	7.6	<0.001	2	0.02	31	<0.001
Взаимодействия факторов	34	<0.001	51.9	<0.001	28	<0.001	51	
Остаток (неконтролируемые факторы)	19		28		37		4.8	

жащие единичные мутации. Удовлетворительная воспроизводимость результатов говорит о закономерности обнаруженного эффекта влияния отцовского фактора на медианную продолжительность жизни.

Линия ВЭС представляет собой результат длительной селекции. Видимо поэтому структура изменчивости MeПЖ в этом комплексе скрещиваний иная.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать заключение, что параметр смертности MeПЖ у дрозофилы является генетически детерминированным признаком, характер наследования которого зависит от материала, используемого в скрещивании, что говорит об его полигенной природе.

В табл. 2 приведены результаты оценки наследуемости изученных параметров, характеризующих вымирание когорт.

Как следует из представленных данных, наивысшие коэффициенты наследуемости наблюдали для параметра MeПЖ. При этом

Таблица 2

**Коэффициенты наследуемости
и 95%-ные доверительные интервалы параметров смертности**

Пол	Модель доза-эффект			Модель Гомперца	
	MeПЖ	НКВЖ	OMГЖ	Start	Gompertz
Самки	0.87 0.75-0.99	0.59 0.37-0.97	0.59 0.38-0.97	0.30 0.13-0.91	0.32 0.14-0.91
Самцы	0.96 0.75-0.99	0.33 0.15-0.92	0.55 0.34-0.96	0.22 0.08-0.87	0.70 0.48-0.98

величина доверительного интервала невелика. Для остальных коэффициентов наследуемости доверительные интервалы намного шире. Это говорит о том, что при последующих оценках значения наследуемости медианной продолжительности жизни будут высоки и колебания будут незначительны. Мы полагаем, что показатель MeПЖ предпочтителен при анализе вклада генотипа в определение продолжительности жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологический энциклопедический словарь. М.: Сов. энциклопедия, 1986. 831 с.
2. Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни. М.: Наука, 1991. 396 с.
3. Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.П. Исследование кинетических закономерностей смертности людей в историческом аспекте // ДАН СССР, 1979. Т. 245. С. 1017-1020.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с.
5. Глотов Н.В., Животовский Л.В., Хованов Н.В., Хромов-Борисов Н.Н. Биометрия. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. 263 с.
6. Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Иовлева О.В. и др. Направленный характер генетических изменений при длительном отборе линий *Drosophila melanogaster* по адаптивно важным признакам // Генетика, 1994. Т. 30. № 8. С. 1085-1096
7. Коли Г. Анализ популяций позвоночных. М.: Мир. 1979. 362 с.
8. Мыльников С.В., Смирнова А.Н. Динамика смертности в инбредных селективируемых линиях и их гибридах у *Drosophila melanogaster* // Онтогенез, 1994. Т. 25. № 4. С. 7-11.
9. Савватеева Е.В. Генетический контроль систем вторичных посредников и их роль в обучении // Успехи современной генетики, 1991. Т. 17. С. 33-99.
10. Сафарова Г.Л. Старение населения Санкт-Петербурга: социально-демографические аспекты. СПб.: Система, 2006. 176 с.
11. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 323 с.
12. Феллер В. Введение в теорию вероятностей и ее приложения. М.: Мир, 1984. Т. 1.
13. Хейфлик Л. Смертность и бессмертие на клеточном уровне // Биохимия, 1997. Т. 62. Вып. 11. С. 1380-1391.
14. Brooks A., Lithgow G.J., Johnson T.E. Mortality rates in a genetically heterogeneous population of *Caenorhabditis elegans* // Science, 1994. Vol. 263. P. 668-671.
15. Carey J.R., Liedo P., Orozco D. et al. Slowing of mortality rates at older ages in large medfly cohorts // Science, 1992. Vol. 258. P. 457-461.
16. Curtsinger J.W., Fukui H.H., Townsend D.R. et al. Demography of genotypes: failure of the limited life-span paradigm in *Drosophila melanogaster* // Science, 1992. Vol. 258. P. 461-463.

17. *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. R. Soc. Lond. A., 1825. Vol. 115. P. 513-585.

18. *Goodrick C.L.* Life span and the inheritance of longevity of inbred mice // J. Gerontol., 1975. Vol. 30. P. 257-263.

19. *Johnson T.E., Wood W.B.* Genetic analysis of life span in *Caenorhabditis elegans* // Proc Natl. Acad. Sci. USA, 1982. Vol. 79. P. 6603-6607.

20. *Jucket D.A., Rosenberg B.* Comparison of the Gompertz and weibul function as descriptors for human mortality distributions and their inter-sections // Mech. Age. Dev., 1993. Vol. 69. P. 1-31.

21. *Makeham W.M.* On the law of mortality and the construction of annuity tables // J. Inst. Actuaries, 1860. Vol. 8. P. 301-310.

22. *Medavar P.B.* An unsolved problem of biology. London: Lewis, 1952. 24 p.

23. *Riggs J.E.* The gompertz function: distinguishing mathematical from biological limitations // Mech. Age. Dev., 1993. Vol. 69. P. 33-36.

24. *Sacher G.A.* On the statistical nature of mortality with special reference to chronic radiation mortality // Radiology. 1956. Vol. 67. P. 250-58.

25. *Sacher G.A.* The Gompertz Transformation in the Study of the Injury-Mortality Relationship: Application to Late Radiation Effects and Ageing / Ed. P.J. Lindop, G.A. Sacher. Taylor and Francis, 1966. P. 411-41.

26. *Smith M.J.* Sex-linked inheritance of longevity in *Drosophila subobscura* // J. Genet., 1959. Vol. 56. P. 227-235.

27. *Storer J.B.* Longevity and gross pathology at death in 22 inbred mouse strains // J. Gerontol., 1966. Vol. 21. P. 404-406.

28. *Tantawy A.O., Rakha F.A.* Studies of natural populations of *Drosophila*: IV Genetic variances and correlations between four characters in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans* // Genetics, 1964. Vol. 50. P. 1349-1355.

29. *Vaupel J.W., Johnson T.E., Lithgow G.J.* Rates of mortality in populations of *Caenorhabditis elegans* // Science, 1994. Vol. 266. P. 826.

30. *Wilson D.L.* A comparison of methods for estimating mortality parameters from survival data // Mech. Age. Dev., 1993. Vol. 66. P. 269-281.

Quantitative regularities of cohorts extinction and its heritability

S.V. Mylinikov

St.-Petersburg State University, St.-Petersburg, Russia

Approximations of 66 survivals curves in *Drosophila melanogaster* by «dose-effect» equation demonstrated high R^2 value. We propose to characterize survival curve by three parameters: Median Life Span, Hill slope of the curve, and Estimated Maximal Life Span. Median Life Span seems to be optimal in analysis of genotype contribution to life expectancy.

ОГРАНИЧЕНИЕ ПИТАНИЯ У ПЛОДОВЫХ МУШЕК: СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ

В.Н. Новосельцев, Ж.А. Новосельцева
Институт проблем управления РАН, Москва, Россия;
e-mail: novoselc@yandex.ru

Введение

При исследованиях на дрозофиле влияние ограничения питания (caloric restriction – CR) на продолжительность жизни (ПЖ) долго было не очевидным [11, 18, 19]. Только в последние годы утвердилась точка зрения, что ограничение питания приводит к увеличению ПЖ и у плодовых мушек [8, 12, 21, 28]. Долгое время считалось, что недостаток ресурсов приводит к сокращению репродукции, что означает уменьшение расхода энергии и, следовательно, производства активных форм кислорода. Старение при этом замедляется, а ПЖ увеличивается [17, 27, 33].

Однако в последнее время это положение все чаще подвергается сомнению. Прежде всего, выяснилось, что при ограничениях питания ПЖ увеличивается не только у нормальных, но и у стерильных мутантных мух [22, 23]. Поскольку у стерильных мух экономии за счет снижения репродукции принципиально не может возникнуть, встал вопрос о том, какие другие механизмы могут отвечать за увеличение ПЖ. Оказалось, что в этом случае увеличение ПЖ идет за счет возрастания экономичности метаболизма, которое в первую очередь может вызываться инсулиновым сигналом [15].

Затем выяснилось, что при одинаковой калорийности пищи ПЖ меняется в зависимости от компонентного состава пищи. В 2008 г. появились работы [9, 20, 30], в которых животные получали пищу одинаковой калорийности, но с различным компонентным составом. Для плодовых мушек *D. melanogaster* и *Medfly* такая пища содержит различное количество дрожжей (белка) и сахара [30]. Оказалось, что при одинаковой калорийности пищи ПЖ сильно зависит от ее состава (рис. 1, [39]).

Таким образом, встал вопрос о роли различных путей увеличения ПЖ за счет перераспределения ресурсов при сокращении репродукции – с одной стороны, и за счет механизмов перестройки метаболизма – с другой.

Увеличение ПЖ и репродукция у дрозофилы при калорийном ограничении

В 1996 г. Т. Чепмэн и Л. Партридж наблюдали увеличение ПЖ у самок *D. melanogaster* [8]. В работе была выявлена немонотонная зависимость ПЖ от калорийности пищи.

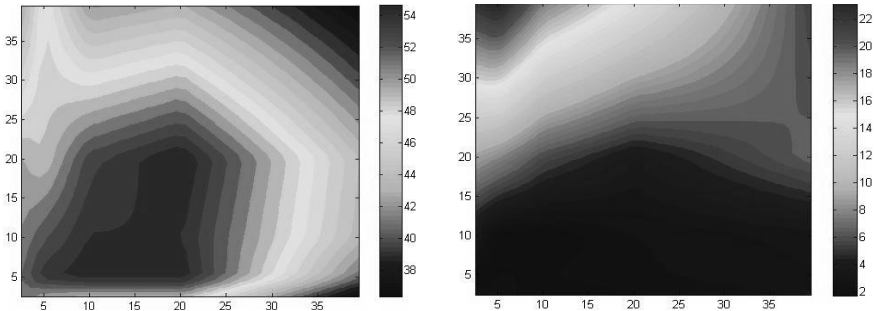


Рис. 1. ПЖ (слева) и репродуктивная активность (справа) у *D. melanogaster* [30] при изменении содержания сахара и белка в пище. Ось X – концентрация сахара, ось Y – концентрация белка, г/дкл. ПЖ имеет максимальные значения около 54 сут. в районе точек (10; 7.5-15; 10). Максимальная продукция яиц (количество яиц, снесенных за 14 сут.) лежит в левом верхнем углу картины и составляет 22 яйца. Поскольку калорийческий эквивалент белка и сахара примерно одинаков, калорийность пищи остается неизменной при перемещении слева-вниз-направо по линиям, соединяющим точки с одинаковыми значениями концентраций.

тонная зависимость ПЖ от доступности корма. Максимум наблюдался, когда мухи получали ровно половину полного питания (full feeding – FF). Было отмечено снижение производства яиц при уменьшении доступности пищи. Авторы утверждали, что уменьшение ПЖ можно объяснить возрастанием репродуктивной активности.

В 2003 г. вышла работа В. Мэйра с соавт., в которой анализировалось увеличение ПЖ при ограничении питания у нестерильных дрозофил. Было показано, что когда мушки переключаются с CR на FF, смертность возрастает до уровня, характерного для FF-мушек. При переключении FF-CR смертность снижается до уровня смертности CR-мушек [21].

Таким образом, последние работы показывают, что ограничение диеты у плодовых мушек приводит к сокращению репродукции и увеличению ПЖ. «Долгоживущие самки при ограниченной диете имеют наибольшее отношение ресурсов, вложенных в соматическое поддержание, к ресурсам, вложенным в яйценесение», – считают авторы группы М. Татара [26].

В этих экспериментах использовались нормальные (нестерильные) самки, у которых возможно перераспределение энергии с самовоспроизведения (репродукции) на самоподдержание. В 2001 г. Т. Гуд и М. Татар [13] использовали в экспериментах с ограничением диеты стерильных мутантных *orb*-самок дрозофилы, у кото-

рых такое перераспределение невозможно в принципе. Они отметили, что смертность (а следовательно и ПЖ) у стерильных дрозофил не зависит от ограничений в питании. Фактически же наблюдавшиеся в их экспериментах изменения все же наступали¹, но с большим запаздыванием, так что Т. Гуд и М. Татар предпочли допустить их практическое отсутствие.

В 2005 г. Группа Л. Паргридж изучала стерильных самок дрозофилы генотипа *ovo* при ограничении диеты [23]. Они обнаружили, что ПЖ у них увеличивается несмотря на невозможность перемещения энергии с репродукции на самоподдержание. В результате встал вопрос об альтернативных путях реализации связи «ограниченное питание – увеличение ПЖ», в частности, об инсулиновом сигналинге у дрозофил [7, 15]. Таким образом, в последние годы стало понятным, что увеличение ПЖ при калорических ограничениях объясняется несколькими причинами – с одной стороны, перемещением ресурсов от репродукции к соматике и, с другой, изменениями метаболизма, определяемого инсулиновым, TOR, SIR2 и стресс-резистивным сигналингом [1, 10, 15, 16, 27].

Увеличение ПЖ и энергетический баланс

В организме животных все механизмы управления многократно дублированы. Так, в системе кровообращения при действии факторов, снижающих артериальное давление, запускается целый ряд (более десятка) сменяющих друг друга механизмов, работающих в интервалах от секунд до многих лет [14]. Чем медленнее эти механизмы, тем более они эффективны с точки зрения энергетики.

Аналогичным образом, по-видимому, обстоит дело и с калорическими ограничениями питания. Стационарность энергетического баланса – необходимое условие протекания жизненных процессов [2], подчиняющееся общим правилам организменной регуляции. Так как при ограничениях питания энергетический баланс нарушается (происходит снижение притока энергии), немедленно начинаются процессы его восстановления. Одна часть этих процессов связана с сокращением расхода энергии, другая – с увеличением ее поступления (рис. 2).

Механизмы, направленные на сокращение энергетических расходов, сразу приводят к сокращению продукции яиц. Если такого сокращения достаточно для достижения стационарного неравновесия, то процесс на этом завершается. В противном случае продолжается медленная перестройка механизмов получения энер-

¹ Это видно, например, в работе [13] на рис. 3б, где от момента переключения питания до заметных изменений в уровне смертности проходит 7 сут.

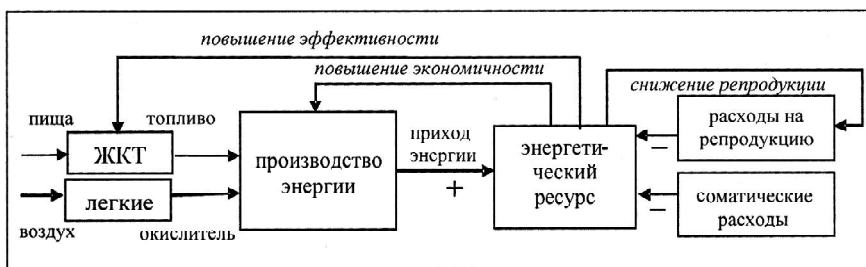


Рис. 2. Механизмы восстановления энергетического баланса в организме самки при ограничении питания. Энергия получается окислением топлива, поступающего с пищей. Если приход энергии уменьшается, нарушается баланс: расходы превышают ее приход. Энергетический ресурс начинает падать. В ответ падают расходы на производство яиц, а затем включаются метаболические процессы – повышается эффективность пищеварения и экономичность производства энергии. В организме стерильных мутантов репродукция отсутствует, поэтому сразу начинается перестройка метаболизма.

гии. Это касается как отбора субстратов из пищи (повышение эффективности пищеварения [6]), так и метаболизма (повышение его экономичности за счет инсулинового, TOR, SIR2 и стресс-резистивного сигналинга). У стерильных мух, не имеющих расходов на репродукцию, перестройка пищеварения и метаболизма начинается сразу.

В любом случае в метаболической системе должно установиться стационарное состояние, для чего происходит перераспределение потоков энергии: ее расход должен уменьшиться, чтобы стать равным приходу. Тогда в соответствии с теорией окислительных повреждений из-за сокращения расхода энергии и производства активных форм кислорода возникает тенденция к уменьшению накопления повреждений. Таким образом, увеличение ПЖ при ограничении питания может быть побочным результатом перестроенных процессов.

Изменение ПЖ и производства яиц при компонентных ограничениях питания

Сахар, поступающий в организм, расходуется на производство энергии, идущей на соматические процессы, и тратится при производстве яиц. Что касается белка, то он расходуется в процессах производства яиц и в меньшей мере – в ходе соматической репарации. Откладка яиц при отсутствии белка не начинается. В целом величина ПЖ при изменении содержания сахара и белка в пище меняется следующим образом (рис. 3).

Зависимости ПЖ от содержания белка и сахара в пище, схематически представленные на рис. 3, хорошо просматриваются на рис. 1, где представлены данные для *D. melanogaster* [30].

Откладка яиц возможна только при наличии в организме белка. При сниженном поступлении белка он сначала будет накапливаться до необходимого уровня, после чего начнется производство яиц. Чем меньше темп поступления белка, тем больше время его накопления до начала яйценосения.

Данные по индивидуальному яйценосению самками плодовых мушек *Medfly* [9] подтверждают эти соображения. Так, снижение поступления углеводов с 12.5 до 5.00 и далее до 2.00 г/дкл приводит к возрастанию времени до начала яйценосения: 12.3–25.1–26.4 сут. В силу гетерогенности популяции доля мух, не успевающих начать процесс откладки яиц, при этом увеличивается: 13–32–77%.

Моделирование организменных процессов при ограничениях питания

Основная трудность при моделировании влияния калорических ограничений на ПЖ заключается в их пересчете в величину ПЖ. В гомеостатической модели старения [3, 25] эта проблема решается посредством введения специальной величины – гомеостатической способности организма. Под гомеостатической способностью понимается способность систем организма превращать поступающие извне вещества в энергию, необходимую для реализации витальных процессов. Старение в этом случае представляется как уменьшение с возрастом гомеостатической способности. Оно идет пропорционально темпу потребления энергии, которое моду-

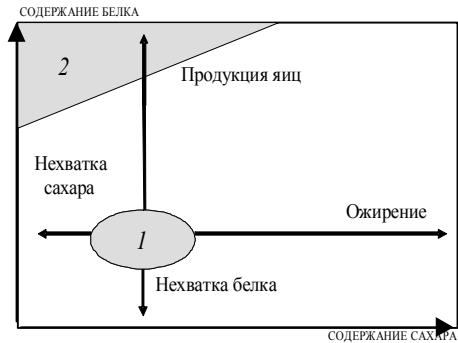


Рис. 3. Нехватка как сахара, так и белка приводит к резкому сокращению ПЖ. При появлении белка он начинает расходоваться для производства яиц. Избыток белка накапливается в организме. Избыток сахара приводит к ожирению (накоплению триглицерида), что, с одной стороны, дает сокращение ПЖ, с другой – уменьшает производство яиц. В результате возникает область максимальных значений ПЖ (на рисунке обозначена цифрой 1), во все стороны от которой ПЖ уменьшается. Область производства яиц (цифра 2) приобретает «треугольный» вид.

лируется коэффициентом β -оксидативной уязвимости организма. Гомеостатическая способность может рассматриваться как один из вариантов классической витальности [25].

При моделировании процессов с ограничением питания возможны два варианта. В первом случае – анализ калорических ограничений – рассматриваются только процессы расходования энергии (рис. 4). Энергия в этом случае считается в кислородных единицах, а в качестве запаса энергии рассматривается кислородный ресурс (запас кислорода) в клетке.

Во втором случае – анализ компонентного состава – рассмотрению одного расхода энергии недостаточно, приходится дополнительно моделировать процессы поступления сахара и процессы поступления и расходования белка. Схема моделирования для этого случая показана на рис. 5. Нормальное соматическое поддержание организма требует расхода обоих веществ – сахара и белка. Эти расходы компенсируются поступлением их с пищей. Сахар компенсирует расходы энергии в соматических процессах и, кроме того, он тратится при репродукции. Белок в основном расходуется на производство яиц, значительно меньше его расход на репарацию оксидативных повреждений. Например, при поступлении белка с концентрацией $dP \geq dP_0$ (г/дкл) и сахара с $dS \geq dS_0$ (г/дкл) баланс энергии в организме не нарушается, а при концентрациях, меньших $dP_0 = dS_0 = 5$, возникает голодание.

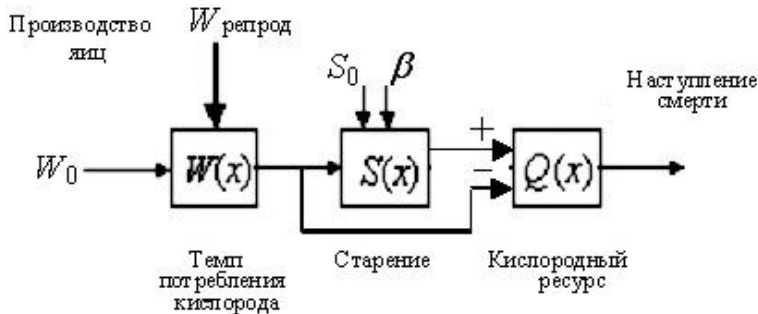


Рис. 4. Моделирование ограниченной калорийности питания. При начале калорического ограничения падает производство яиц, так что расход кислорода (энергии) немедленно сокращается на некоторую часть величины $W_{\text{репрод}}$, компенсируя уменьшение прихода. Старение приводит к уменьшению притока энергии с возрастом, кислородный ресурс медленно падает и после достижения им нулевого уровня наступает смерть от старости. На рисунке W_0 – соматический, $W_{\text{репрод}}$ – репродуктивный расход энергии, x – возраст, S_0 – начальное значение гомеостатической способности, β – коэффициент оксидативной уязвимости, $Q(x)$ – кислородный ресурс организма. Уравнения модели см., например, [3, 24].

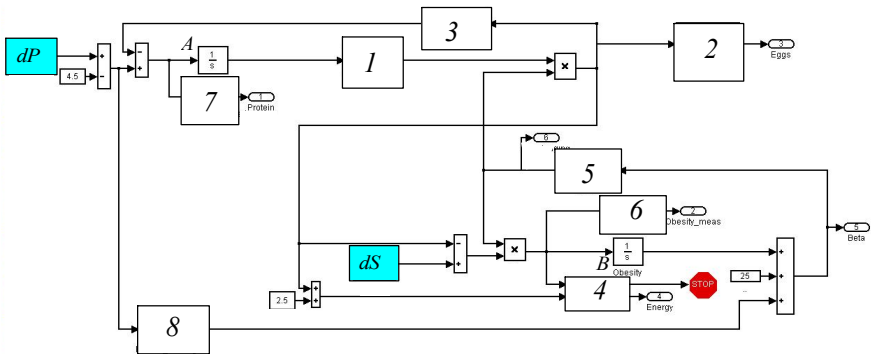


Рис. 5. Схема моделирования экспериментов с переменным компонентным составом пищи. Затененные квадраты означают входы модели – поступление белка dP и сахара dS с пищей. Цифрами обозначены блоки, описывающие различные процессы в организме плодовых мушек: 1 – производство яиц; 2 – подсчитываемые яйца (с 3-х по 17-е сут.); 3 – динамика производства яиц; 4 – суммарный ресурс соматической энергии; 5 – динамика процесса старения; 6 – измеряемый показатель ожирения (до 13-х сут.); 7 – измеряемый протеин (до 13-х сут.); 8 – оценка белкового голодания. Интеграторы $1/s$ означают накопление вещества: A – белка, B – сахара. Смерть наступает при исчерпании ресурса 4.

Производство яиц начинается при наличии достаточного количества протеина в организме. При его нехватке период до начала яйценосения увеличивается. В момент превышения должного уровня происходит выброс яйцеклеток из гермария в овариолы, уровень белка в гермарии падает и поступление яйцеклеток в овариолы прекращается. Так продолжается вплоть до следующего превышения критического уровня в результате накопления белка. Процесс многократно повторяется, и производство яиц в модели приобретает «импульсный характер». Подробнее этот процесс рассмотрен в [4]. Наконец, в модели учитывается время, проходящее от завершения производства яйцеклеток в гермарии до момента созревания яиц в овариолах.

Среди важнейших факторов, рассматриваемых в работе [30], – ожирение и накопление белка. Уровень адипозности примерно пропорционален содержанию сахара в пище, а повышение белка в пище приводит к его накоплению (также примерно пропорционально его концентрации). При «нормальных» концентрациях белка и сахара в организме идет процесс «нормального» старения (снижения гомеостатической способности с возрастом), завершающийся смертью от старости. При снижении поступления сахара с пищей нормальное старение заменяется быстрым умиранием, которое приводит к смерти от голода. В первом случае ресурс энер-

гии медленно снижается из-за уменьшения с возрастом гомеостатической способности, во втором – быстро исчерпывается из-за нехватки сахара. Скорость процесса умирания и время жизни при голодании зависят от содержания сахара в пище.

Нехватка белка с точки зрения репарации оксидативных повреждений приводит к сокращению репарации, и в пределе – к ее прекращению. Это означает увеличение коэффициента оксидативной уязвимости β и соответствующее ускорение старения. Подробное описание схемы моделирования будет приведено в другой публикации.

Результаты моделирования

Моделирование перевода нестерильных самок с режима полного питания (FF) на калорическое ограничение (CR) производится по схеме (рис. 5). Цель моделирования состоит в том, чтобы показать, что экспериментально наблюдаемое в [21] увеличение ПЖ в случае перехода FF-CR может быть полностью объяснено экономией энергии, идущей на производство яиц.

В индивидуальном организме при FF- и CR-питании потребление кислорода различается на величину $W_{\text{репрод}}$, так что после переключения производится соответствующее изменение расхода энергии. Для моделирования популяции *in silico* производится многократное ($N = 2000$) повторение процесса в индивидуальном организме с вариацией параметров. Подробно переход от модели индивидуального организма к популяции описан в [3, 24].

Результаты моделирования полностью подтвердили исходное предположение. Все режимы перехода FF-CR и CR-FF на 14-е и 22-е сут. совпали с реальными экспериментами. Рисунок 6 иллюстрирует типичные зависимости перехода с одного режима на другой.

In silico эксперименты, проведенные по схеме рис. 5 для случая компонентного ограничения питания, повторяли реальные эксперименты, результаты которых показаны на рис. 1. В целом при моделировании полученные данные воспроизводят их хорошо. На рис. 7 показаны результаты экспериментов *in silico* для одного из вариантов модели.

Подробное описание схемы и процесса моделирования будет дано в следующих публикациях. В настоящее время работа продолжается, с тем чтобы получить исчерпывающие результаты по анализу не только ПЖ и репродукции, но и процессов накопления белка и сахара (при их избытке) и быстрого умирания организма (при их недостатке). Для этого надо детально воспроизвести и проанализировать процессы производства яиц, их созревания в овариолах и откладки.

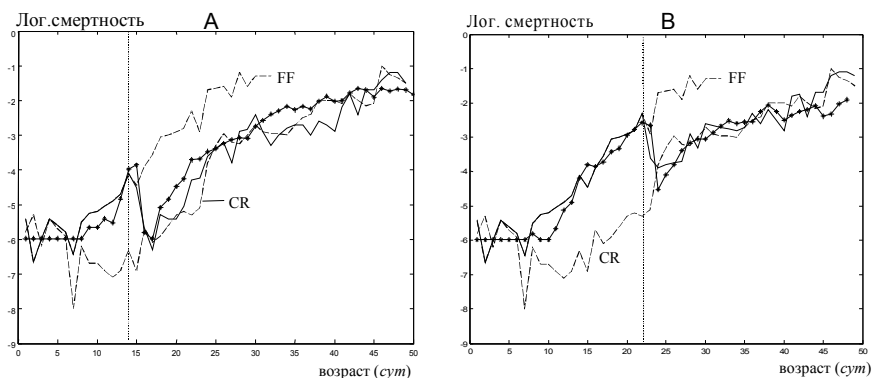


Рис. 6. Смертность самок *Drosophila* при переключении с полного питания (FF) на калорийное ограничение (CR). А – переключение FF-CR на 14-е сут. Пунктирная линия – логарифм смертности для FF и CR. Сплошная линия – переключение режимов; линия со звездочками – модель *in silico* с коэффициентом Мэйкема $k_m = 0.0025$ ($N = 2000$); В – переключение FF-CR на 22-е сут.

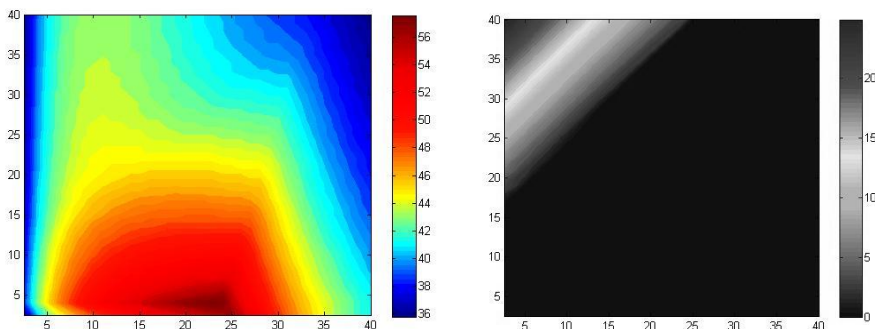


Рис. 7. Продолжительность жизни и репродукция у дрозофилы [30] и результаты экспериментов *in silico*. Поступление сахара – ось X, белка – ось Y (г/дкл). Данные реальных экспериментов приведены на рис. 1. Видно принципиальное сходство результатов: на обоих рисунках максимальная ПЖ лежит в нижней части рисунка, вправо и вверх ПЖ убывает из-за ожирения и производства яиц. Влево и вниз ПЖ уменьшается из-за нехватки белка и сахара. Яйценесение сосредоточено в левом верхнем углу рисунка, что также отвечает реальному эксперименту.

Обсуждение

Системный анализ процессов ограничения питания у плодовых мушек (дрозофила и *Medfly*) показывает, что основной причиной увеличения ПЖ в условиях как калорического, так и компонентного ограничения питания является сокращение репродукции. Существенную роль в различных диапазонах изменения кон-

центраций белка и сахара, кроме производства яиц, имеет ожирение. Ожирение сокращает ПЖ и, кроме того, уменьшает производство яиц.

В условиях голодания нехватка белка и сахара – снова в различных диапазонах их изменения – приводит к быстрой смерти организма. Нехватка сахара означает недостаток энергии на соматические процессы, а нехватка белка, по-видимому, приводит к утрате репарационной способности и увеличению оксидативной уязвимости. В обоих случаях наблюдается быстрая смерть организма.

В случае калорических ограничений системный анализ позволяет снять видимое противоречие, состоящее в том, что увеличение ПЖ происходит даже при отсутствии репродукции (у стерильных мутантов) и, следовательно, невозможности переброски энергии с репродукции на самоподдержание. При уменьшении поступления энергии с пищей прекращение производства яиц представляет собой экстренный механизм достижения нового равновесного состояния. Если же его оказывается недостаточно для установления нового равновесия, начинается перестройка метаболизма с использованием инсулинового, TOR и SIR2 сигналинга. Именно так и обстоит дело у стерильных мутантов.

Репродукция играет настолько важную роль в жизни животного организма, что после восстановления стационарности должен начаться процесс «вытеснения» быстродействующих механизмов (прекращения производства яиц) более медленными (метаболическими сдвигами). Можно поэтому ожидать, что после завершения метаболической перестройки процесс производства яиц сможет вновь восстановиться. Для экспериментальной проверки этого предположения придется повторить эксперимент с переключением с FF на CR. Учитывая длительное время, необходимое для завершения процессов перестройки метаболизма (порядка семи и более суток), переключение с одного режима на другой следует произвести как можно раньше.

ЛИТЕРАТУРА

1. Москалев А.А. Старение и гены. СПб.: Наука, 2008.
2. Новосельцев В.Н. Теория управления и биосистемы. Анализ сохранительных свойств. М.: Наука, 1978.
3. Новосельцев В.Н., Новосельцева Ж.А., Яшин А.И. Анализ истории жизни у плодовых мушек // Геронтология *in Silico*: становление новой дисциплины. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. С. 255-317.
4. Новосельцев В.Н., Новосельцева Ж.А. Моделирование репродуктивных процессов у плодовых мушек: Тр. XVIII междунар. конф. IT +M&E' 2010. Гурзуф, 2010 (в печати).

5. Новосельцев В.Н., Новосельцева Ж.А. Ограничение диеты увеличивает продолжительность жизни у стерильных и нестерильных самок *D. melanogaster*: системный анализ. Успехи геронтологии, 2010 (в печати).

6. Уголев А.М. Естественные технологии биологических систем. Л.: Наука, 1987.

7. Broughton S., Partridge L. Insulin/IGF-like signalling, the central nervous system and aging // Biochem. J., 2009. Vol. 418. P. 1-12.

8. Chapman T., Partridge L. Female fitness in *Drosophila melanogaster*: an interaction between the effect of nutrition and encounter rate with males // Proc. Roy. Soc. Lond., 1996. Vol. 263. P. 755-759.

9. Carey J.R. Personal communication.

10. Cheng Ch.-L., Gao T.-Q., Wang Z., Li D.-D. Role of insulin/insulin-like growth factor 1 signaling pathway in longevity // World J. Gastroenterol., 2005. Vol. 11. P. 1891-1895.

11. Chippindale A.K., Leroi A.M., Kim S.B., Rose M.R. Phenotypic plasticity and selection in *Drosophila* life-history evolution. I. Nutrition and the cost of reproduction // J. Evol. Biol., 1993. Vol. 6. P. 171-193.

12. Davies S., Kattel R., Bhatia B., Petherwick A., Chapman T. The effect of diet, sex and mating status on longevity in Mediterranean fruit flies (*Ceratitis Capitata*), Diptera. Tephritidae // Exp. Gerontol., 1996. Vol. 40. P. 784-792.

13. Good T.P., Tatar M. Age-specific mortality and reproduction respond to adult dietary restriction in *Drosophila melanogaster* // J. Insect. Physiol., 2001. Vol. 47. P. 1467-1473.

14. Guyton A. Textbook on medical physiology. 6th edition. W.B. Saunders, Philadelphia, 1981.

15. Hwangbo D.S., Gersham B., Tu M.-P., Palmer R., Tatar M. *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body // Nature, 2004. Vol. 429. P. 562-566.

16. Kapahi P., Zid B.M., Harper T., Koslover D., Sapin C.V., Benzer S. Regulation of lifespan in *Drosophila* by modulation of genes in the TOR signaling pathway // Curr. Biol., 2004. Vol. 14. P. 885-890.

17. Kirkwood T.B.L., Rose M.R. Evolution of senescence – late survival sacrificed for reproduction // Phil. Trans. R. Soc. Lond., 1991. Vol. B332. P. 15-24.

18. Le Bourg E., Minois N. Failure to confirm increased longevity in *Drosophila melanogaster* submitted to a food restriction procedure // J. Gerontol. A. Biol. Sci., 1996. Vol. 6. P. B280-B283.

19. Le Bourg E., Medioni J. Food restriction and longevity in *Drosophila melanogaster* // Age Nutr., 1991. Vol. 2. P. 90-94.

20. Lee K.P., Simpson S.J., Glissold F.J., Brooks R., Ballard J.W.O., Taylor P.W., Soran N., Raubenheimer D. Lifespan and reproduction in *Drosophila*: New insights from nutritional geometry. PNAS, 2008. Vol. 105. P. 2498-2503.

21. Mair W., Goymer P., Pletcher S.D., Partridge L. Demography of dietary restriction and death in *Drosophila* // Science, 2003. Vol. 301. P. 1731-1733.

22. Mair W., Piper M.D.W., Partridge L. Calories do not explain extension of life span by dietary restriction in *Drosophila* // PloS Biol., 2005. Vol. 3. P. 1305-1311.

23. Mair W., Sgro C.M., Johnson A.P., Chapman T., Partridge L. Lifespan extension by dietary restriction in female *Drosophila melanogaster* is not caused by a reduction in vitellogenesis or ovarian activity // Exp. Gerontol., 2004. Vol. 39. P. 1011-1019.

24. Novoseltsev V.N., Carey J., Liedo P., Novoseltseva J.A., Yashin A.I. The reversal of aging in virgin female fruit flies: an anticipation of oxidative damage hypothesis // Exp. Gerontol., 2000. Vol. 35. P. 971-987.

25. Novoseltsev V.N., Novoseltseva J.A., Yashin A.I. A homeostatic model of oxidative damage explains paradoxes observed in earlier aging experiments: a fusion and extension of older theories of aging // Biogerontol., 2001. Vol. 2. P. 127-138.

26. O'Brien D.M., Min K.-J., Larsen T., Tatar M. Use of stable isotopes to examine how dietary restriction extend *Drosophila* lifespan // Curr. Biol. Magazine, 2006. Vol. 18. P. R155-R156.

27. Partridge L., Gems D., Withers D.J. Sex and death: What is the connection? // Cell., 2005. Vol. 120. P. 461-472.

28. Pletcher S.D., Macdonald S.J., Marguerie R., Gerta J., Stearns S.C., Golgstein D.B., Partridge L. Genome-wide transcript profiles in aging and calorically restricted *Drosophila* // Curr. Biol., 2002. Vol. 12. P. 712-723.

29. Rogina B., Gelfand S.L. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004. Vol. 101. P. 15998-16003.

30. Scorupa D.A., Dervisevendic A., Zweiner J., Pletcher S.D. Dietary composition specifies consumption, obesity, and lifespan in *Drosophila melanogaster*. Aging Cell., 2008. Vol. 7. P. 478-490.

31. Soukas A.A., Kane E.A., Carr C.E., Melo J.A., Ruvkun G. Rictor/TORC2 regulates fat metabolism, feeding, growth, and life span in *Caenorhabditis elegans* // Genes Dev., 2009. Vol. 23. P. 496-511.

32. Tatar M., Bartke A., Antebi A. The endocrine regulation of aging by insulin-like signals // Science, 2003. Vol. 299. P. 1346-1351.

33. Zera A.J., Harshman L.G. The physiology of life history trade-offs in animals // Annu. Rev. Ecol. Syst., 2001. Vol. 32. P. 95-126.

Diet restriction in fruit flies: system analysis

V.N. Novoseltsev, J.A. Novoseltseva

Institute of Control Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The current opinion affirms that moderate caloric restriction in fruit flies increases life span. Nonetheless last years' experiments demonstrate that such an increase is obliged to component content of the diet and not to its caloric content. A hypothesis is put forward in

this paper that under caloric restriction in an organism, the energy arrival decreases so that the stationary state is upset and must be restored. To achieve this, reproduction is reduced, after which remodeling of metabolism and increasing of substrate output from the gastrointestinal start. The increase of life span can be just a side effect of these processes.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЖИДАЕМОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛЮДЕЙ И ИХ ПОТОМКОВ

В.И. Тельнов

Южно-Уральский институт биофизики, г. Озерск, Россия

Введение

Ожидаемая продолжительность предстоящей жизни (ОППЖ) является одним из важных обобщающих показателей здоровья населения. На продолжительность жизни людей могут оказывать влияние многие факторы внутренней и внешней среды, такие как характер питания, употребление алкоголя, курение, сердечно-сосудистая и другая патология, профессиональные факторы, в том числе и радиационные [1-5]. Широко обсуждается роль генетических факторов [6-9]. Особое внимание в этом отношении привлекают генетические полиморфные системы, которые остаются постоянными на протяжении всей жизни. Как известно, около 30% генов в геноме человека полиморфны, т.е. представлены двумя и более аллелями [10]. Хорошо известно существенное значение наследственного полиморфизма в разных адаптационных возможностях и различной заболеваемости у людей [11]. В значительно меньшей степени эта проблема изучена относительно продолжительности жизни человека.

Показатель ОППЖ – это число лет, которые в среднем предстоит прожить данному поколению родившихся или числу сверстников определенного возраста, если предположить, что на всем протяжении их жизни смертность в каждой возрастной группе будет такой, какой она была в том году, для которого производится исчисление [12]. То есть, число лет ОППЖ указывает на то, сколько лет в среднем проживут еще лица, достигшие данного возраста.

Одним из наиболее неблагоприятных последствий действия радиации является сокращение продолжительности жизни облученных организмов [5]. Вместе с тем, в литературе данные по оценке продолжительности жизни у облученных людей весьма ограничены. Определенные перспективы в изучении этой проблемы у работников атомной промышленности представляет популяционно-генетический подход, основанный на оценке ОППЖ у людей с разными генотипами. Ранее нами было показано, что естественная убыль людей с разными генотипами неодинакова [13]. Исходя из этого, целью исследования явилась оценка ОППЖ у облученных людей и их потомков с разными генотипами и определение вклада радиационных и нерадиационных факторов в ее изменение.

Материалы и методы исследования

Проведен анализ результатов обследования 985 работников ПО «Маяк» – 695 мужчин и 290 женщин (основная группа) – в возрасте от 35 до 79 лет, которые в период становления предприятия подверглись облучению в широком диапазоне доз, и 406 человек – 286 мужчин и 120 женщин (контрольная группа) – в возрасте 25-55 лет, не имевших контакта с профессиональным радиационным воздействием и проживающих в этом же городе. Суммарные дозы внешнего гамма-облучения по данным индивидуального фотоконтроля у обследованных людей колебались от 1 до 760 сГр. По результатам биофизического обследования 720 человек имели инкорпорацию плутония-239. Также были обследованы 511 детей работников ПО «Маяк», подвергшихся воздействию внешнего гамма-облучения в суммарных дозах от 1 до 757 сГр на момент зачатия (основная группа). Контрольную группу составили 205 детей, родители которых не имели профессионального контакта с источниками ионизирующего излучения.

Определение типов Нр проводили с помощью вертикального электрофореза в 5% -ном полиакриламидном геле. ОППЖ для лиц определенного возраста получали из таблицы смертности жителей г. Озерск по данным переписи населения 1989 г. Для количественной оценки возрастных сдвигов в распределении генетических маркеров определяли относительный риск возрастной элиминации ($RR_{ВЭ}$) людей с данным генотипом Нр в возрасте n и более лет на основе формулы для четырехпольных таблиц [14]:

$$RR_{ВЭ} = \frac{P_a \times P_{c+d}}{P_c \times P_{a+b}}, \quad (1)$$

где P_a – доля данного генотипа у лиц младшей возрастной группы, P_b – доля данного генотипа у лиц старшей возрастной группы, P_c – доля остальных генотипов у лиц младшей возрастной группы, P_d – доля остальных генотипов у лиц старшей возрастной группы.

$RR_{BЭ}$ показывает, каковы шансы носителя данного генотипа выбыть из популяции по достижении возраста n лет. При этом $RR_{BЭ}$ всех генотипов в популяции равен 1, при его увеличении возрастная элиминация повышается, при уменьшении – снижается.

ОППЖ для людей с данным генотипом, достигших возраста n лет (ОППЖ_{НГ}), определяли по предложенной нами формуле:

$$\text{ОППЖ}_{НГ} = \text{ОППЖ}_N / RR_{BЭ}, \quad (2)$$

где ОППЖ_N – ОППЖ для лиц в общей популяции, достигших возраста n лет.

Общую (полную) ОППЖ для людей с данным генотипом (ОППЖ_{ОГ}) определяли по формуле:

$$\text{ОППЖ}_{ОГ} = n_{\text{лет}} + \text{ОППЖ}_{НГ}. \quad (3)$$

ОППЖ для людей из общей популяции с известным распределением генотипов (ОППЖ_{ПГ}) определяли по формуле:

$$\text{ОППЖ}_{ПГ} = \sum (\text{ОППЖ}_{ОГj} \times P_j), \quad (4)$$

где $\text{ОППЖ}_{ОГj}$ – ОППЖ для людей с данным генотипом, P_j – частота данного генотипа в популяции.

Результаты и их обсуждение

Ранее при оценке распределения генетических маркеров у обследованных работников предприятия атомной промышленности нами были выявлены определенные возрастные особенности [16]. Они заключались в различной направленности возрастных изменений генотипов H_p у людей 60 и более лет, облученных в относительно малых (снижение доли лиц с генотипом 2-2) и более значительных (снижение доли лиц с генотипом 2-1) дозах. При этом в последней группе установлена достоверная зависимость возрастных изменений от внешнего гамма-облучения в суммарных дозах более 400 сГр или (и) инкорпорации плутония-239 более 1.48 кБк. Общим для возрастной динамики генетической системы H_p у людей, облученных в относительно малых и значительных дозах, было повышение частоты H_p 1-1. В табл. 1 представлено распределение генотипов H_p , $RR_{BЭ}$ и показатели ОППЖ у людей 60 и более лет, подвергшихся относительно меньшему радиационному воздействию

Таблица 1

ОППЖ у людей с разными генотипами Нр, доживших до возраста 60 лет, облученных в относительно меньших и больших дозах

I. <100 сГр и (или) <1.48 кБк	n	Генотипы Нр, %		
		1-1	2-1	2-2
1. <60 лет	1015	13.2%	48.7%	38.1%
2. 60+ лет	99	21.2%	49.5%	29.3%
RR _{вэ}		0.73	0.99	1.21
ОППЖ _{НГ} , лет		21.4	15.8	12.9
ОППЖ _{ОГ} , лет		81.4	75.8	72.9
II. >100 сГр и (или) >1.48 кБк	n	Генотипы Нр, %		
		1-1	2-1	2-2
1. <60 лет	1015	13.2%	48.7%	38.1%
2. 60+ лет	129	20.1%	41.1%	38.8%
RR _{вэ}		0.75	1.18	0.98
ОППЖ _{НГ} , лет		20.8	13.2	15.9
ОППЖ _{ОГ} , лет		80.8	73.2	75.9

(суммарные дозы внешнего γ -облучения до 100 сГр или (и) инкорпорация плутония-239 не более 1.48 кБк). Отметим, что ОППЖ для лиц, достигших возраста 60 лет, в общей популяции города (ОППЖ_Н) составила 15.6 лет. В табл. 1 также представлено распределение генотипов Нр, RR_{вэ} и ОППЖ у людей 60 и более лет, подвергшихся значительному радиационному воздействию (суммарные дозы внешнего γ -облучения более 100 сГр и (или) инкорпорация плутония-239 более 1.48 кБк). Из данных табл. 1 видно, что у людей с генотипом Нр 2-2, достигших возраста 60 и более лет, сокращение ОППЖ наблюдается при облучении в малых дозах, а у людей с генотипом Нр 2-1 этот эффект наблюдается при облучении в значительных дозах. При этом в том и другом случае ОППЖ у людей с генотипом 1-1 была максимальной.

Для оценки возможного вклада радиационного фактора в изменение ОППЖ у лиц старшей возрастной группы, облученных в относительно малых дозах, был проведен дальнейший анализ возрастных изменений с учетом доз внешнего и внутреннего облучения. Как видно из табл. 2, распределение генотипов Нр, RR_{вэ} и показатели ОППЖ были практически одинаковы у этих лиц в диапазоне суммарных доз внешнего гамма-облучения от 1 до 100 сГр или (и) в диапазоне уровней инкорпорации плутония-239 0-1.48 кБк. Подобный анализ был проведен и в старшей возрастной группе (60+ лет) при значительном радиационном воздействии. При суммар-

ной дозе внешнего гамма-облучения более 400 сГр или (и) инкорпорации плутония-239 больше 1,48 кБк установлено сокращение ОПГЖ у людей с генотипом Нр 2-1 по сравнению с группой лиц, получивших меньшее радиационное воздействие (табл. 2).

Таблица 2

**ОПГЖ у людей с разными генотипами Нр 60 и более лет,
облученных в относительно малых дозах,
при разных уровнях радиационного воздействия**

Группа	n	Генотипы Нр, %		
		1-1	2-1	2-2
1. Сравнения (<60 лет)	1015	13.2%	48.7%	38.1%
2. 60+ лет, дозы γ -облучения 1-49 сГр и (или) Pu-239 0 -<0.74 кБк	55	20.8%	50.0%	29.2%
RR _{вэ}		0.74	0.97	1.22
ОПГЖ _{Нр} , лет		21.1	16.1	12.8
ОПГЖ _{ОГ} , лет		81.1	76.1	72.8
3. 60+ лет, дозы γ -облучения 50-100 сГр и (или) Pu-239 0.74-1.48 кБк	44	22.2%	48.2%	29.6%
RR _{вэ}		0.71	1.01	1.20
ОПГЖ _{Нр} , лет		22.0	15.4	13.0
ОПГЖ _{ОГ} , лет		82.0	75.4	73.0
4. 60+ лет, дозы γ -облучения 100-400 сГр и (или) Pu-239 \leq 1.48 кБк	65	18.5%	47.7%	33.8%
RR _{вэ}		0.80	1.02	1.10
ОПГЖ _{Нр} , лет		19.5	15.3	14.2
ОПГЖ _{ОГ} , лет		79.5	75.3	74.2
5. 60+ лет, дозы γ -облучения >400 сГр и (или) Pu-239 >1.48 кБк	64	21.9%	34.4%	43.8%
RR _{вэ}		0.72	1.34	0.89
ОПГЖ _{Нр} , лет		21.7	11.6	17.5
ОПГЖ _{ОГ} , лет		81.7	71.6	77.5

Для выяснения некоторых конкретных причин возрастной элиминации генотипов у обследованных людей из медицинской документации была получена информация о сердечно-сосудистой патологии и сахарном диабете, вносящих существенный вклад в смертность населения в развитых странах [15]. Лица с разными генотипами Нр были сопоставимы по радиационным (суммарные дозы внешнего гамма-облучения или (и) инкорпорация плутония-239) и основным биологическим (возрастно-половой состав) фак-

торам. Ранее нами были обнаружены отклонения в распределении генотипов Нр в сторону снижения гомозигот 2-2 и некоторого повышения числа гомозигот 1-1 среди людей старше 59 лет, страдающих сахарным диабетом, гипертонической болезнью и перенесших инфаркт миокарда [13].

В табл. 3 представлено распределение генотипов Нр у людей 60 и более лет с выделенными заболеваниями. Для этих заболеваний, при которых обнаружилась возрастная динамика, были определены $RR_{вз}$ и ОППЖ относительно продолжительности жизни для контрольной группы (см. табл. 3). Следовательно, на основании полученных результатов можно говорить о двух вариантах различий ОППЖ у людей с разными генотипами – нерадиационном и радиационном. Нерадиационный вариант характеризуется сокращением ОППЖ в порядке Нр 1-1 > Нр 2-1 > Нр 2-2, а радиационный – сокращением ОППЖ в порядке Нр 1-1 > Нр 2-2 > Нр 2-1 (см. табл. 1 и 2).

При анализе генетической структуры детей работников ПО «Маяк» по названным выше генетическим маркерам были установлены существенные изменения в распределении генотипов и аллелей Нр у лиц, чьи родители получили к моменту зачатия суммарные дозы внешнего гамма-облучения, т.е. гонадные дозы, более 200 сГр (табл. 4). Эти изменения характеризовались достоверным увеличением числа гомозигот 2-2 и частоты аллеля Нр². При этом они не зависели от дозы антенатального (внутриутробного) облучения и нерадиационных факторов. Полученные результаты свидетельствуют о наличии гаметического отбора в семьях переоблученных людей в пользу гомозигот 2-2. Исходя из нерадиационного варианта изменения ОППЖ у людей с разными генотипами Нр и данных табл. 3 была проведена сравнительная оценка ОППЖ

Таблица 3

Распределение генотипов Нр, относительный риск возрастной элиминации, ожидаемая продолжительность предстоящей жизни и ее изменения у носителей генотипов Нр в возрасте 60 и более лет при различных заболеваниях

Заболевание	Возраст, лет	n	Генотипы Нр, %		
			1-1	2-1	2-2
Контроль	<60	404	13.4	48.0	38.6
Инфаркт миокарда, эссенциальная гипертония, сахарный диабет	<60	122	14.7	45.1	40.2
	60+	104	18.3	52.9	28.8
	$RR_{вз}$		0.69	0.82	1.55
	ОППЖ		22.6	19.0	10.1

Таблица 4

**Частота генотипов и аллелей гаптоглобина у потомков
в зависимости от суммарной дозы облучения,
полученной родителями к моменту зачатия**

Группы детей	Прекоцептивные дозы облучения родителей	n	Генотипы Нр		
			1-1	2-1	2-2
1-я	Контроль (0)	205	13.7%	50.7%	35.6%
2-я	Основная (0.1-756 сГр), в т.ч.	511	13.7%	44.2%	42.1%
3-я	менее 200 сГр	371	14.3%	46.4%	39.3%
4-я	более 200 сГр	140	12.1%	38.6%	49.3%*
Группы детей	Прекоцептивные дозы облучения родителей	n	ОППЖ, лет		
			Общая	Изменение	
1-я	Контроль (0)	205	75.53	–	
2-я	Основная (0.1-756 сГр), в т.ч.	511	75.35	–0.18	
3-я	менее 200 сГр	371	75.46	–0.07	
4-я	более 200 сГр	140	75.05	–0.48	

* Достоверные различия ($p < 0.05$) в распределении и частоте генотипов и аллелей по отношению к контролю.

у потомков облученных и необлученных людей с использованием формулы 4. Как видно из табл. 4, по сравнению с ОППЖ потомков необлученных людей во всей группе потомков облученных людей ОППЖ меньше на 0.18 года. При этом в группе потомков, чьи родители к моменту их зачатия получили суммарные дозы внешнего гамма-облучения менее 200 сГр, ОППЖ была уменьшена на 0.07 года, а в группе потомков, чьи родители к моменту их зачатия получили суммарные дозы внешнего гамма-облучения более 200 сГр, ОППЖ была уменьшена практически на 0.5 года.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важном значении генетического полиморфизма в неодинаковой ожидаемой продолжительности жизни людей, имеющих разные генотипы. Очевидно, что причиной сокращения ОППЖ у людей с генотипом Нр 2-2 при малом радиационном воздействии являются нерадиационные факторы, в частности, сердечно-сосудистая и другая патология (нерадиационный вариант изменения ОППЖ). Сокращение ОППЖ у людей с генотипом Нр 2-1 при значительном радиационном воздействии (радиационный вариант изменения ОППЖ) может быть объяснено повышенной заболеваемостью и последующей смертностью от онкологических заболеваний, что согласуется с результатами популяционно-генетических наблюде-

ний, свидетельствующих о более высоком канцерогенном риске у носителей этого генотипа по сравнению с другими [16, 17]. В результате анализа генетических маркеров у потомков работников выявлены существенные сдвиги в распределении типов Нр, в частности, повышение доли типа Нр 2-2 при дозах внешнего гамма-облучения более 200 сГр, полученных родителями к моменту зачатия. Исходя из нерадиационного варианта генотипических различий в ОППЖ для этой группы потомков проведен предварительный расчет ОППЖ, который свидетельствует об ее уменьшении на 0.5 лет по сравнению с контролем.

Таким образом, на основе разработанного популяционно-генетического метода оценена ОППЖ у облученных людей и их потомков с разными генотипами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геронтология in silico: становление новой дисциплины / Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты: Сборник науч. труд. под ред. Г.И. Марчука, В.Н. Анисимова. М.: Бином, 2009.
2. *Воейков В.Л.* Био-физико-химические аспекты старения и долголетия // *Успехи геронтологии*, 2002. Вып. 9. С. 261-277.
3. *Уоткинс П.Дж.* Сахарный диабет / Пер. с англ. М.: БИНОМ, 2006. 134 с.
4. *Арабидзе Г.Г., Теблов К.И., Ипатов А.И.* и др. Атеросклероз. М., 2005.
5. *Cologne J.B., Preston D.L.* Longevity of atomic-bomb survivors// *Lancet*, 2000. Vol. 356. № 9226. P. 303-307.
6. *Алтухов Ю.П.* Аллозимная гетерозиготность, скорость полового созревания и продолжительность жизни // *Генетика*, 1998. Т. 34. № 7. С. 908-919.
7. *Алтухов Ю.П., Шереметьева В.А.* Гетерозиготность генома и долголетие человека // *ДАН*, 2000. Т. 371. № 5. С. 710-713.
8. *Lunetta K.L., D'Agostino R.B., Karasik D.* et al. Genetic correlates of longevity and selected age-related phenotypes: a genome-wide association study in the Framingham Study. *BMC Medical Genetics*, 2007. Vol. 8. Suppl. 1. S1-S13.
9. The quest for genetic determinants of Human longevity: challenges and insights. *Nat. Rev. Genet.*, 2006. Vol. 7. № 6. P. 436-448.
10. *Алтухов Ю.П.* Генетические процессы в популяциях. М.: ИКЦ Академкнига, 2003.
11. *Спицын В.А.* Экологическая генетика человека. М.: Наука, 2008.
12. *Медков В.М.* Основы демографии: учебное пособие / Серия «Учебники и учебные пособия». Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. 448 с.
13. *Тельнов В.И.* Возрастная динамика распределения генетических маркеров в облученной популяции. *Генетическая система гаптоглобина* // *Генетика*, 1997. Т. 33. № 10. С. 1406-1413.

14. Флейс Дж. Статистические методы для изучения долей и пропорций / Пер. с англ. М.: Финансы и статистика, 1989. 319 с.
15. Бреева Е.В. Основы демографии. М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К^о», 2004.
16. Beckman G., Eklund A., Frohlander., Stejnberg N. Haptoglobin groups and lung cancer // Hum. Hered., 1986. Vol. 36. № 3. P. 123-133.
17. Mitchell R.J., Carzino R., Janardhana V. Association between two serum protein haptoglobin and transferrin and leukaemia // Hum. Hered., 1988. Vol. 38. № 3. P. 144-150.

БИОМАРКЕРЫ ИНДУЦИРОВАННОГО СТАРЕНИЯ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛЮДЕЙ

В.И. Тельнов, Е.Н. Кириллова, Е.И. Рабинович
Южно-Уральский институт биофизики, г. Озерск, Россия

Актуальной проблемой современной геронтологии и смежных дисциплин является поиск специфических особенностей индуцированного старения по сравнению с естественным старением. Целью явилось обобщение результатов молекулярно-генетических, иммунологических и биохимических исследований у работников ПО «Маяк», подвергшихся внешнему и (или) внутреннему радиационному воздействию. При оценке молекулярно-генетических изменений у работников установлено дозозависимое повышение NO мутантных клеток по гликофориновому тесту, повышение частоты аномального и множественного метилирования CpG-островков в промоторных районах генов p16, O⁶-MGMT и GATA5, а также снижение частоты аномального метилирования в гене RASSF1A в тканях аденокарциномы легкого, учащение частоты метилирования в генах O⁶-MGMT, GATA4 и GATA5 клеток мокроты при высокой инкорпорации плутония-239. При анализе частоты мутаций в минисателлитной ДНК половых клеток работников не было выявлено достоверных изменений. Выявлено связанное с дозой внешнего облучения (>400 сГр) учащение раннего церебрального атеросклероза у людей с типами гаптоглобина (Hr) 2-1 и 2-2. Повышение распространенности хронического гепатита и цирроза печени при воздействии плутония-239 отмечалось у людей с типами Hr 1-1 и 2-2. У работников, подвергшихся внешнему облучению в дозах более 100 сГр, наблюдалось вторичное иммунодефицитное состояние, обусловленное нарушениями врожденного и приобретенного иммунитета, которое реализовалось в виде учащения инфекционно-воспалительного синдрома. Также были обна-

ружены многообразные биохимические изменения, связанные с радиационным воздействием: атерогенные отклонения, возрастные сдвиги белкового, углеводного, пуринового обмена и тиреоидного статуса, снижение белково-синтетической функции печени, которые в ряде случаев имели генотипические особенности. Полученные результаты свидетельствуют о многообразии молекулярно-биологических проявлений радиационно-индуцированного старения у облученных людей. При этом радиационное старение не имеет каких-либо качественных отличий от естественного старения, а лишь более ранние проявления и большую степень выраженности.

Старение определяется как увеличение с возрастом вероятности возникновения дегенеративных болезней (рак, аутоиммунные заболевания, сердечно-сосудистая патология и др.) и смерти. Процесс старения может ускоряться под влиянием неблагоприятных факторов внешней среды, в том числе радиации. Актуальной проблемой современной геронтологии и смежных дисциплин является поиск специфических особенностей индуцированного старения по сравнению с естественным старением [1]. Основными характеристиками индуцированного старения являются сокращение продолжительности жизни, снижение качества жизни, преждевременные возрастные изменения и неадекватные возрастные реакции на неблагоприятные воздействия [2]. В основе этих изменений могут лежать различные молекулярно-генетические процессы (мутации в соматических и половых клетках, генетические полиморфизмы и эпигенетические нарушения), а также многообразные иммунологические и биохимические сдвиги.

Целью настоящей работы явилось обобщение результатов молекулярно-генетических, иммунологических и биохимических исследований у работников ПО «Маяк», подвергшихся внешнему и (или) внутреннему радиационному воздействию, для определения биомаркеров радиационно-индуцированного старения.

Материалы и методы

Обследовано 985 работников ПО «Маяк» и 511 их потомков. Накопленные дозы внешнего гамма-облучения составляли у работников 0.1-756 сГр. Содержание плутония-239 в организме у 33.1% лиц не было обнаружено, у остальных на момент последнего определения колебалось от 0.148 до 25.27 кБк. Преконцептивные дозы внешнего облучения у работников колебались в тех же пределах. В табл. 1 представлена общая характеристика изученных показателей, а также методы их исследования. Сравнение проводили по отношению к соответствующему контролю.

Таблица 1

Показатели и методы исследования

1. Определение полиморфных генетических маркеров у работников ПО «Маяк» (электрофорез, серологический анализ)	985 чел.
2. Гликофориновый тест (проточная цитофлюориметрия)	26 чел.
3. Определение генетических маркеров у потомков работников ПО «Маяк» (электрофорез, серологический анализ)	511 чел.
4. Оценка частоты мутаций в минисателлитной ДНК (геномный фингерпринт)	51 семья (171 чел.)
5. ПЦР-анализ аномального метилирования генов клеток аденокарциномы легких	66 чел.
6. Клинико-биохимический анализ показателей липидного, белкового, углеводного, пуринового обмена и активности ферментов	304-985 чел.
7. Оценка тиреоидного статуса	745 чел.
8. Оценка иммунного статуса (проточная цитофлюориметрия, ИФА и др.)	312 чел.

Результаты исследования и их обсуждение

При оценке уровня соматических мутаций в локусе гликофориногена А у работников ПО «Маяк» (дозы внешнего облучения 220-581 сГр) по сравнению с необлученным контролем установлено дозозависимое повышение NO мутантных клеток. В то же время при анализе частоты мутаций в минисателлитной ДНК половых клеток работников не было выявлено достоверных изменений по сравнению с контролем.

При изучении эпигенетических изменений в восьми регуляторных генах клеток аденокарциномы легких у работников, подвергшихся воздействию плутония-239 в дозе более 30 сГр, установлено повышение частоты аномального метилирования CpG-островков в промоторных районах генов p16, O⁶-MGMT и GATA5, частоты множественного метилирования (в трех и более генах одновременно), а также снижение частоты аномального метилирования в гене RASSF1A. Подобный анализ, проведенный у работников, подвергшихся воздействию плутония-239, но не имеющих новообразований, показал учащение частоты аномального метилирования в генах O⁶-MGMT, GATA4 и GATA5 клеток мокроты, а также множественного метилирования.

При оценке роли генетического полиморфизма в возрастных эффектах облучения (табл. 2) наблюдалось связанное с дозой внешнего облучения (>400 сГр) учащение раннего церебрального атеросклероза у людей с типами гаптоглобина (Hr) 2-1 и 2-2. Повышение распространенности хронического гепатита и цирроза печени при содержании плутония-239 в организме более 3.7 кБк отмечалось у людей с типами Hr 1-1 и 2-2. Также установлено связанное с воздействием внешнего (>100 сГр) и внутреннего (>1.5 кБк) облучения сокращение продолжительности жизни у людей с типом Hr 2-1 вследствие учащения радиационно-обусловленной опухолевой патологии.

Достоверно повышенный риск стохастических эффектов облучения – злокачественных новообразований – установлен для носителей ряда радиочувствительных генотипов. Полученные данные свидетельствуют о том (табл. 3), что у облученных людей с радиочувствительными генотипами относительный риск стохастических эффектов колеблется в пределах от 1.25 до 2.1; генотипический относительный риск стохастических эффектов – в пределах от 1.02 до 1.27; средние значения данных рисков составили 1.5 и 1.2 соответственно.

В целом полученные результаты свидетельствуют о достаточно высоком риске радиационных эффектов у людей с радиочув-

Таблица 2

**Относительный риск (ОР)
радиационных детерминированных эффектов у людей**

Эффекты	Дозы облучения (Гр) или инкорпорация плутония-239 (кБк)	Генетические системы (I) и радиочувствительные генотипы (II)		ОР*
		I	II	
Ранний церебральный атеросклероз	>4.0 Гр	Hr: ABO: B(III), AB(IV)	Hr 2-1, Hr 2-2	2.7 4.2
Хронический гастрит	>4.0 Гр	Hr: ABO: O(I), A(II)	Hr 2-1, Hr 2-2	2.4 2.7
Хронический гепатит или (и) цирроз печени	>3.7 кБк	Hr:	Hr 1-1, Hr 2-2	2.9
Сокращение продолжительности жизни	>1.0 Гр и (или) 1.5 кБк	Hr:	Hr 2-1	1.4

* Здесь и далее жирным шрифтом выделены достоверно повышенные относительные риски.

Таблица 3

Относительный (ОР) и генотипический относительный (ГОР) риски стохастических эффектов у облученных людей

Стохастические эффекты	Интервалы доз облучения (Гр)	Генетические системы: радиочувствительные генотипы против (vs) радиорезистентных	ОР
Рак легкого	Рентгенодиагностика: нет или есть (1-40 процедур)	CCND1 (G870A): AA vs GA, GG TP53 (R72P): RR vs RP, PP Tp53 интрон 3: A2A2 vs A1A1, A1A2	1.2 1.0 2.1
Менингиома	Лучевая терапия: нет или 1-6 Гр на область головы по поводу опоясывающего лишая в детском возрасте	NF2 (Rs731647): TT vs AT, AA Ki-ras (Rs9966): CT vs CC, TT E-kadherin (Rs2010724): AG vs AA, GG XRCC5 (Rs828699): TG vs TT, GG XRCC1 (Rs1001581): TT vs CT, CC	1.8 1.5 1.4 1.25 1.04
Рак молочной железы	≤5 или >5 маммографий	DSB genes: 2-4 варианты vs 0-1 вариантов	1.25
Рак молочной железы	Рентгенологи	XRCC1 (codon 399): rg/Arg vs Arg/Gln, Gln/Gln	1.4
Меланома кожи	УФО-облучение: неинтенсивное	XPD (Lys757Gln): Lys/Lys vs Lys/Gln, Gln/Gln	1.8
	интенсивное	XPD (Asp312Asn): Asp/Asp vs Asp/Asn, Asn/Asn	1.5
		Вместе	1.7

ствительными генотипами, что, в конечном счете, проявляется на популяционном уровне. Важное значение генетическая предрасположенность имеет и в случае развития стохастических эффектов у людей после радиохимиотерапии по медицинским показаниям. Как видно из табл. 4, среди людей с радиочувствительными генотипами, получивших радиохимиотерапию по поводу злокачественных новообразований, в дальнейшем наблюдается повышенный риск лейкоза, рецидивов опухолевых заболеваний и повышенной радиочувствительности у женщин с раком молочной железы.

Одним из ведущих факторов старения является снижение иммунной защиты. У работников, подвергшихся внешнему облучению в дозах более 100 сГр, наблюдалось вторичное иммуноде-

Таблица 4

**Относительный риск (ОР) стохастических эффектов у людей
с радиочувствительными генотипами после радиохимиотерапии (РХТ)**

Генетические системы: радиочувствительный генотип против (vs) радиорезистентных	ОР спонтанного лейкоза	ОР РХТ- индуцированного лейкоза
XRCC1 (codon 399): Arg/Arg vs Arg/Gln, Gln/Gln	1.4	2.5
RAD51: G/C, C/C vs G/G	1.7	2.6
GSTT1: 0-вариант vs (+) варианта	1.5	1.7
GSTP1: Ile/Val, Val/Val vs Ile/Ile	1.0	1.6
NQO1: Ser/Ser vs Pro/Pro, Pro/Ser	1.5	2.7
Все	1.4	2.2
ОР рецидива рака желудка		
XPD: Lys/Lys vs Lys/Gln, Gln/Gln		6.0

фицитное состояние, обусловленное нарушениями врожденного и приобретенного иммунитета в результате снижения количества и активности фагоцитирующих нейтрофилов, бактерицидной функции, Т-лимфоцитов (CD+), относительного содержания Т-хелперов (CD+) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD+), количества В-лимфоцитов и уровня IgG. В конечном счете, эти изменения реализовались в виде учащения инфекционно-воспалительного синдрома.

Анализ частоты заболеваний щитовидной железы у жителей города, подвергшихся в детском возрасте воздействию газо-аэрозольных выбросов йода-131, показал увеличение частоты узлового зоба по сравнению с контролем. При этом в общей популяции распространенность узлового зоба имела четкую возрастную зависимость.

Важной характеристикой старения являются атеросклеротические изменения. Изучение состояния липидного обмена у работников показало существенные атерогенные отклонения, обусловленные внешним облучением в дозе более 100 сГр, а именно: повышение общего холестерина, бета-холестерина и триглицеридов, снижение альфа-холестерина, учащение гиперлипотеидемий II-IV типов и гипо-альфа-холестеринемии, а также повышение коэффициента атерогенности [4]. Другие биохимические изменения, связанные с радиационным воздействием и отражающие преждевременные возрастные сдвиги или неадекватные возрастные реакции, включали:

– повышение энтропии электрофоретических фракций белков и уровня мочевой кислоты, а также частоты гиперурикемии при внешнем облучении в дозе более 100 сГр;

– снижение белково-синтетической функции печени у работников с инкорпорацией плутония-239 более 1.5 кБк (по преальбуминовому тесту);

– учащение нарушенной толерантности к глюкозе и повышение частоты выявления костного изофермента щелочной фосфатазы после 60 лет при внешнем облучении в дозе более 400 сГр;

– снижение общего трийодтиронина на фоне нормального общего тироксина при дозе внешнего облучения более 350 сГр, проявляющееся у лиц с типом Нр 2-2.

Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований у работников ПО «Маяк» свидетельствуют о многообразных биомаркерах радиационно-индуцированного старения. Из представленных материалов видно, что радиационное старение не имеет каких-либо качественных особенностей по сравнению с естественным старением. В данном случае речь может идти лишь о более ранних проявлениях и о большей степени выраженности признаков старения у облученных людей. Этот вывод подтверждают и результаты исследований, свидетельствующие о повышенном риске опухолевых и неопухолевых (сердечно-сосудистая и другая патология) эффектов у облученных людей [5].

ЛИТЕРАТУРА

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

2. Радиационное старение. Механизмы естественного и индуцированного старения: Тез. докл. междунар. симп. М.: РУДН, 2009. 50 с.

3. *Тельнов В.И.* Оценка генетических последствий в популяции работников ПО «Маяк» / Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. М.: МЗСРРФ, 2006. Вып. 2. С. 123-129.

4. *Токарская З.Б., Тельнов В.И.* Биохимические исследования при оценке состояния здоровья работников ПО «Маяк» в клинике Южно-Уральского института биофизики // Вопросы радиационной безопасности, 2003. Спецвыпуск. С. 53-63.

5. The 2007 Recommendation of the International Commission on radiological Protection: Publication 103. ELSEVIER, 2007. 348 p.

СРЕДОВАЯ МОДИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДОЛГОЛЕТИЯ

А.В. Халявкин^{1, 2} A.I. Yashin³

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия;
e-mail: ab3711@mail.sitek.net

² Институт системного анализа РАН, Москва, Россия;
e-mail: antisenesc@mail.ru

³ Duke University, Durham, USA

Введение

По данным ВОЗ темп старения человека на 10% зависит от уровня жизни, на 20 – от генотипа, на 20 – от окружающей среды и на 50% – от образа жизни. Значит, экологические факторы и индуцированная ими активность, во многом влияющая на образ жизни, вносят наибольший вклад в реализацию генетического потенциала долголетия. Известно, что лишь 5% всех случаев болезни Альцгеймера и около 5% заболеваемости некоторыми видами злокачественных новообразований связаны с определенными аллелями, а остальные 95% – с негативными влияниями среды и образа жизни. В силу этих обстоятельств даже возможное устранение вредного влияния указанных аллельных вариантов даст лишь незначительный эффект. При прогериях из-за их очень низкой частоты эффект будет еще меньшим. Поэтому есть веские основания рассматривать внешние воздействия и реакции на них организмов в качестве перспективного модификатора потенциала долголетия. И хотя он с трудом поддается оценке, потенциальная иммортальность клеточных популяций, составляющих сложный организм, совместима и с неограниченностью этого потенциала, и с конечностью во времени его носителя.

Анализ закономерностей кинетики выживания когорт и статистики их смертности в зависимости от внешних условий и индуцируемых ими режимов жизнедеятельности [3] позволяет понять «почему стареет организм, состоящий из потенциально бессмертных клеток» [2, 3]. И, судя по всему, стареет он не по «программе» и не из-за постулируемой ограниченности восстанавливающих систем, а в результате функционирования в пессимальных режимах жизнедеятельности, диктуемых неадекватными условиями существования. Если это так, то стратегия интенсификации и экстенсификации детализации и поисков «внутренних механизмов старения», чему посвящено подавляющее большинство исследований, окажется бесплодной. Хотя, обобщив методами системной биологии массив полученных данных, в конечном итоге она при-

ведет к аналогичным выводам – первопричину старения бесполезно искать внутри организма.

Биологические основания

Снижение активности систем организма с возрастом – один из основных признаков старения. Многие полагают, что старение связано с изменением экспрессии генов, например, из-за возрастного укорочения теломер (вариант запрограммированного старения, постулированный А.М. Оловниковым) или с накоплением свободнорадикальных повреждений макромолекулярных комплексов, особенно митохондриальных (вариант стохастического старения, выдвинутый Д. Харманом). Однако ни использование мощного антиоксиданта SkQ1, тропного к митохондриям [1], ни повышение экспрессии теломеразы [16] не привели к существенному увеличению максимальной продолжительности жизни [1, 16]. Кроме того, обсуждаются возможные неканонические функции теломерных участков хромосом, в том числе расположенных внутри хромосомы, в поддержании ее целостности, формы и т.п. [11]. Известно, что клетки мышей в культуре при физиологических концентрациях O_2 конститутивно экспрессируют теломеразу и не подвержены лимиту Хейфлика [8]. Тем не менее, мыши стареют. С другой стороны, отмеченная экспериментально обратимость многих признаков старения позволяет скептически отнестись к постулату о неизбежности старения.

Например, известно, что с возрастом репликативная активность клеток, даже стволовых, падает. Однако воссоздание адекватных условий поддерживает эту активность на молодом уровне и *in vitro* [15, 17], и *in vivo* [7, 13, 14].

Кроме так называемого репликативного старения известно также и хронологическое старение клеток в стационарной культуре [5]. Эксперименты А.Н. Хохлова, обобщенные в его монографии, проводились на сомкнутом монослое клеток в культуре с отсутствующей или минимальной пролиферативной активностью из-за контактного торможения размножения. В течение короткого срока (одна-две недели) клетки стали проявлять признаки старения, схожие с таковыми у старых организмов [5]. За этот срок культуральная среда истощалась, что могло моделировать снижение ростовых факторов и нутриентов при старении индивидов. Если же питательную среду, обогащенную эмбриональной телячьей сывороткой, обновлять дважды в неделю, то необратимых признаков пролиферативного старения клеток, вышедших после годового пребывания в «стационаре», не наблюдалось [4].

Аналогичные результаты по обратимости признаков старения были получены на митохондриях *in vitro* [9, 10, 12] и *in vivo* [6]. Обобщив результаты своих многочисленных экспериментов по восстановлению митохондриальной и общей физиологической активности старых крыс, Брюс Эймс в частности приводит данные по улучшению этих активностей практически до молодого уровня смесью ацетилкарнитина и липоевой кислоты [6].

Эти и подобные им данные выявляют высокий потенциал организма противостоять старению и указывают на возможности управления этим потенциалом.

Сигнальная роль среды в управлении старением и закономерности статистики смертности

Хорошо известно, что живые организмы являются самонастраивающимися системами, чутко реагирующими на внешние условия и способными менять уровень активности и свои действия в зависимости от возникающих ситуаций. Причем даже если компоненты организма потенциально способны к неограниченно долгому самоподдержанию, реализовать эту потенцию они могут лишь в адекватном внешнем окружении. Именно оно вызывает ответные режимы жизнедеятельности, которые оптимальны для функционирования организма с полным циклом восстановления. Отклонения от границ эволюционно сложившейся оптимальной для данного вида экологической ниши неизбежно приведет к неполному циклу восстановления и соскальзыванию организма в стареющее состояние. Эта закономерность известна даже для таких нестареющих существ, как гидры. Изменением среды существования добиваются их старения.

В связи с этим интересно, что такие закономерности статистики смертности, как закон Гомперца и корреляция Стрелера-Милдвана, совместимы с изложенной концепцией возникновения старения в результате пессимального влияния среды и индуцируемого ею образа жизни [3, 11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н., Бакеева Л.Е., Егормин П.А. и др. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. 5. SkQ увеличивает продолжительность жизни и предотвращает развитие признаков старения // Биохимия, 2008. Т. 73. Вып. 12. С. 1655-1670.
2. Фролькис В.В., Мурадян Х.К. Старение, эволюция и продление жизни. Киев: Наукова думка, 1992.

3. *Халявкин А.В.* Экспериментальные указания на возможность приближения к нестареющим режимам жизнедеятельности // *Механизмы процесса старения*. М.: Наука, 1989. С. 53-60.

4. *Халявкин А.В., Блохин А.В.* Длительное ограничение пролиферации клеток в культуре не приводит к их пролиферативному старению // *Цитология*, 1994. Т. 36. № 5. С. 465-468.

5. *Хохлов А.Н.* Пролиферация и старение. М., ВИНТИ, 1988. 176 с.

6. *Ames B.N.* Optimal micronutrients delay mitochondrial decay and age-associated diseases // *Mech. Ageing Dev.*, 2010 Apr 24. [Epub ahead of print].

7. *Carlson M.E., Suetta C., Conboy M.J.* et al. Molecular aging and rejuvenation of human muscle stem cells // *EMBO Mol. Biol.*, 2009 Vol. 1. № 8-9. P. 381-391.

8. *Gorbunova V., Seluanov A.* Coevolution of telomerase activity and body mass in mammals: from mice to beavers // *Mech. Ageing Dev.*, 2009. Vol. 130. № 1-2. P. 3-9.

9. *Hayashi J., Ohta S., Kagawa Y.* et al. Nuclear but not mitochondrial genome involvement in human age-related mitochondrial dysfunction. Functional integrity of mitochondrial dysfunction // *J. Biol. Chem.*, 1994. Vol. 269. № 9. P. 6878-6883.

10. *Isobe K., Ito S., Hosaka H.* et al. Nuclear-recessive mutations of factors involved in mitochondrial translation are responsible for age-related respiration deficiency of human skin fibroblasts // *J. Biol. Chem.*, 1998. Vol. 273. № 8. P. 4601-4606.

11. *Khalyavkin A.V.* Telomere, telomerase and causes of aging // *Gerontological Approaches to Care for the Aged in the 21st Century*. Proceedings of the 6th Asia / Oceania Regional Congress of Gerontology (Seoul, June 8-11, 1999). Seoul, 2000. P. 253-257.

12. *Lee S., Jeong S.-Y., Lim W.-C.* et al. Mitochondrial fission and fusion mediators, hFis1 and OPA1, modulate cellular senescence // *J. Biol. Chem.*, 2007. Vol. 282. № 31. P. 22977-22983.

13. *Manz R.A., Radbruch A.* Plasma cells for a lifetime? // *Eur. J. Immunol.*, 2002 Vol. 32. P. 923-927.

14. *Mayack S.R., Shadrach J.L., Kim F.S., Wagers A.G.* Systemic signals regulate ageing and rejuvenation of blood stem cell niches // *Nature*, 2010. Vol. 463. № 7280. P. 495-500.

15. *Tang D.G., Tokumoto Y.M., Apperly J.A.* et al. Lack of replicative senescence in cultured rat oligodendrocyte precursor cells // *Science*, 2001. Vol. 291. № 5505. P. 868-871.

16. *Tomas-Loba A., Flores I., Fernandez-Marcos P.J.* et al. Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice // *Cell.*, 2008. Vol. 135. № 4. P. 6009-622.

17. *Wiesner M., Zentz C., Mayr C.* et al Conditional immortalization of human B cells by CD40 ligation // *PLoS One*, 2008 Vol. 3. № 1. P. 1464.

**РЕЗОЛЮЦИЯ
МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ГЕНЕТИКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И СТАРЕНИЯ»
12-15 апреля 2010 г., Сыктывкар, Республика Коми**

Современные научные исследования показывают, что генетическими и эпигенетическими методами в лабораторных условиях удается существенно продлить жизнь модельным животным. Исходя из накопленных знаний об общих фундаментальных механизмах старения, можно замедлять старение и продлевать жизнь людей. Расширение знаний о генетике продолжительности жизни и старения позволит разработать научные методы продления здорового периода жизни человека, что является, на наш взгляд, важнейшей государственной задачей в области социальной политики.

Участники конференции считают наиболее перспективными направлениями научных исследований в области генетики старения и продления жизни:

1. Поиск генов долгожительства у модельных объектов и человека.
2. Изучение роли эпигенетических факторов в процессе старения.
3. Выяснение механизмов влияния внешней среды на скорость старения.
4. Математическое моделирование процессов старения и условий долголетия.
5. Выявление новых маркеров биологического возраста, разработка эффективных геропротекторов, генетических и негенетических методов вмешательства в процессы старения.

Указанные направления требуют скоординированных исследований ведущих научных организаций на стыке различных научных дисциплин (геронтологии, генетики, биохимии, биотехнологии, экологии, физиологии, математики) в рамках общих проектов, поддержанных федеральными и региональными властями, Геронтологическим обществом при РАН, грантовыми фондами и частными исследовательскими организациями.

Вынуждены констатировать, что на сегодняшний день существуют проблемы, которые требуют решения:

1. Научные исследования генетики продолжительности жизни и старения в Российской Федерации сильно разобщены и финансируются крайне недостаточно для совершения научных прорывов в этой области.

2. В перечне направлений финансирования Российского фонда фундаментальных исследований отсутствует направление «геронтология».

3. Существующая в настоящее время длительная и несовершенная процедура прохождения таможенного контроля крайне затрудняет международный обмен коллекциями генетически модифицированных мышей и дрозофил, а также поставку реактивов для молекулярно-генетических исследований.

Участники конференции предлагают уделить внимание:

1. Организаторам научного поиска – при планировании исследований увеличить перечень тем по генетике старения и продолжительности жизни, расширить международное сотрудничество в данной сфере.

2. Грантодателям – увеличить число конкурсов исследовательских проектов, связанных с изучением механизмов старения и поиском средств продления жизни.

3. Пропагандировать значимость и перспективы работ по геронтологии.

4. Дать указание таможенной службе пропускать живой экспериментальный материал в соответствии с европейскими стандартами.

Научная программа Международной конференции «Генетика продолжительности жизни и старения» реализована полностью. В связи с успехом данного мероприятия участники конференции предлагают сделать ее регулярной и провести следующую конференцию в г. Сыктывкар в апреле 2012 г.

Резолюция принята единогласно 15 апреля 2010 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Таскаев А.И. Выступление на открытии конференции	3
Приветственное письмо в адрес оргкомитета от академика РАН М.П. Рощевского	5
Москалев А.А., Шапошников М.В. Международная конференция «Генетика продолжительности жизни и старения»	6
Беньковская Г.В. Возможности и ограничения изменений продолжительности жизни в лабораторной популяции <i>Musca domestica</i> L.	14
Воробьева А.К., Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Бурлакова Е.Б., Теренина М.Б., Голощапов А.Н. Изменение показателей окислительного стресса у мышей со спонтанным лейкозом при действии эфирного масла чабера	18
Горенская О.В., Повар М.В., Гаврилов А.Б. Влияние малых доз сверхвысокочастотного электромагнитного излучения на длительность предимагинального развития и продолжительность жизни дрозофилы в зависимости от генотипа ...	23
Елсукова Е.И. Влияние калорийно ограниченного рациона на бурую жировую ткань лабораторных мышей	29
Зиновьева В.Н., Чернышова В.В., Спасов А.А. Изучение геропротекторных свойств экстракта гребней винограда на модели дрозофилы	34
Карманов А.П., Кочева Л.С., Борисенков М.Ф., Миронов М.В., Полина И.Н., Прудова Т.А., Карманова Ю.А. Энтеросорбенты на основе гидролизованного лигнина	39

Квитко О.В.

Сопряженный с развитием эпигенетический механизм
репарации возрастных нарушений 44

Колчева Н.Е.

Возрастная гетерогенность популяции малой лесной мыши
в неоптимальных условиях обитания 51

Матюшкова Н., Свилле Э., Муйжниекс И.

Влияние экстракта гриба шиитаке на продолжительность жизни
и устойчивость к тепловому шоку *Drosophila melanogaster* 55

Михальский А.И., Wu D., Yashin A.I., Johnson T.E.

Моделирование возрастной реакции
на умеренные стрессовые воздействия 61

Мурадян Х.К., Тимченко А.Н.

Атмосфера, эволюция, омоложение и продление жизни 68

Мыльников С.В.

Количественные закономерности вымирания когорт
и их наследуемость 86

Новосельцев В.Н., Новосельцева Ж.А.

Ограничение питания у плодовых мушек: системный анализ 97

Тельнов В.И.

Генетические аспекты ожидаемой продолжительности жизни
у облученных людей и их потомков 109

Тельнов В.И., Кириллова Е.Н., Рабинович Е.И.

Биомаркеры индуцированного старения у облученных людей 117

Халявкин А.В., Yashin A.I.

Средовая модификация генетического потенциала долголетия 124

Резолюция Международной конференции

«Генетика продолжительности жизни и старения» 128

ISBN 978-5-89606-426-8



Научное издание

Международная конференция

ГЕНЕТИКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И СТАРЕНИЯ

Материалы докладов

*Рекомендовано к изданию
ученым советом Института биологии Коми НЦ УрО РАН*

Оригинал-макет и корректура Е.А. Волкова
Графический дизайн Р.А. Микушев

Лицензия № 19-32 от 26.11.96 г. КР 0033 от 03.03.97 г.

Компьютерный набор. Подписано в печать 22.06.2010.
Формат 60×90^{1/16}. Бум. офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 8.25. Уч.-изд. л. 8.25. Тираж 150. Заказ 21(10).

Информационно-издательский отдел
Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН.
167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28.