

Московское общество испытателей природы
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

ДОКЛАДЫ МОИП



Том 55

Секция Геронтологии

Москва, МОИП, 2013

**Доклады МОИП. Том 55. Секция Геронтологии.
Сборник статей. М.: МОИП, 2013. 107 с.**

В сборнике представлены научные статьи авторов на основе докладов, прочитанных на заседаниях Секции геронтологии Московского общества испытателей природы за 2012-2013гг.

Редакционная коллегия:

д.м.н. В.И.Донцов (ответственный редактор),
к.т.н. В.Е.Чернилевский (председатель секции),
проф. В.Н.Крутько (ген.директор НП «НГЦ», редактор)
д.т.н.. А.А.Кудашов (директор ООО«ВНИПИМ», редактор)

В подготовке издания принимали участие:

Лаб. Геронтологии Научно-исследовательского медико-стоматологического института Московского государственного медико-стоматологического университета им. Евдокмова (МГМСУ),

Лаб. экспериментальной и прикладной геронтологии
ООО «Всесоюзный научно-исследовательский и проектный институт мономеров» (ВНИПИМ)

Лаб. Системного анализа и информационных технологий в медицине и экологии Института системного анализа РАН (ИСА РАН)

Электронный адрес редакции: chernilevskyve@mail.ru
dontsovvi@mail.ru

© МОИП

МОИП: <http://www.moipros.ru>

Издательство «Цифровичок» П.л. 7,0 Тираж 100 экз.

ИСТОРИЯ И ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ СЕКЦИИ ГЕРОНТОЛОГИИ

Геронтология – наука о природе старения и продлении жизни, наука ученых-энтузиастов. И.И.Мечников, С.Воронов, Н.К.Кольцов, А.В.Немилов, М.Завадовский, И.И.Шмальгаузен, А.В.Нагорный, И.Н.Буланкин, А.А.Богомолец и другие выдающиеся ученые создали приоритет нашей страны по проблеме старения. Первый этап этой истории завершился в 1938 г. большой конференцией по старению, на которой были представлены все направления геронтологии, в том числе биология старения и омоложение. Труды этой конференции “Старость” Киев.: Изд-во АН УССР. 1940. 500 с. заложили фундамент для развития геронтологии в СССР. Было ясно, что приоритетным направлением должна стать биология старения. В 1950-е годы в МОИП создается Секция геронтологии. Примечательно, что в МОИП интерес к проблемам старения прослеживается лет 200. Многие выдающиеся отечественные и зарубежные учёные и естествоиспытатели, которые внесли огромный вклад в развитие мировой геронтологии, были Действительными и Почётными членами МОИП. Среди них: А.Вейсман, И.И.Мечников, Ч.Дарвин, А.Уоллес, Р.Вирхов, В.И.Вернадский, А.И.Опарин, И.И.Шмальгаузен, Н.П.Кренке, К.Ф.Гартман, Н.Крашенинников, Н.А.Красильников, Н.К.Кольцов, Н.П.Дубинин, В.В.Алпатов, А.А.Малиновский, Ж.Медведев, А.А.Богомолец, С.Воронов, В.А.Догель, И.В.Гёте (поэт и естествоиспытатель), Л.Н.Толстой (как философ), М.М.Завадовский, И.А.Аршавский, Н.М.Эмануэль и многие другие. Они имели научные контакты с ведущими биологами и геронтологами мира. Со многими из них Президенты МОИП были в дружеских отношениях и активно способствовали их деятельности.

Председателем Секции в 1950-е годы был известный биолог В.В.Алпатов, секретарём – Л.В.Комаров. В.В.Алпатов, Ж.А.Медведев, А.А.Малиновский, Л.В.Комаров и другие биологи-энтузиасты создали в Секции большой коллектив, который проводил экспериментальные исследования, работали теоретические семинары по биологии старения и проводились конференции. Результаты работы были отражены в материалах двух Всесоюзных совещаний МОИП 1959 и 1960 гг.: “Проблемы долголетия”, МОИП, 1962 и “Проблемы старения и долголетия”, Труды МОИП, т.17, 1966. Это давало основание для создания Института геронтологии в Москве. Однако Институт был создан в Киеве на базе нескольких клинических институтов, и стал головным Институтом.

В 1972 г. Л.В.Комаров организует секцию “Биологии старения” при Научном Совете АН СССР “Физиология”, создает Международную ассоциацию по проблеме “Искусственное увеличение видовой продолжительности жизни” и журнал *Rejuvenation* (Омоложение), организует в 1978

и 1980 гг. 2 Всесоюзных симпозиума по этой проблеме и участвует в организации Научного Совета АН СССР по биологии старения.

С 1974 г. членами Секции создается Общество ювенологов, целью которого была разработка способов продления жизни. Это вызвало у населения огромный интерес и привлекло в Секцию большое число людей разных специальностей, которые практиковали известные оздоровительные методы, создавали группы здоровья и оздоровительные учреждения.

В 1981 г. в Секции геронтологии создается подсекция Биологии старения, которую возглавил известный генетик и врач Александр Александрович Малиновский. Подсекция занималась в основном изучением первичных причин и механизмов старения на разных уровнях организации живого, разработкой путей и средств продления жизни. Результаты исследований представлены в материалах конференций МОИП: “Проблемы биологии старения”, 1982, “Биология продолжительности жизни”, 1985, “Биологические проблемы старения и увеличения продолжительности жизни”, 1985, “Механизмы процесса старения”, 1988. А.А.Малиновский был сыном А.А.Богданова (А.А.Малиновского) – легендарного деятеля революционного движения, философа, писателя, врача, геронтолога, директора Института жизнеспособности (первого института геронтологии, который был переименован в Институт переливания крови).

С 1992 г. Секцию возглавляет В.Е.Чернилевский (до этого секретарь Секции с 1979 г., физик МГУ, фармаколог, кандидат наук). В этот период перестройки в нашей стране задачей было создание заново структур и учреждений геронтологии. В 1990-92 гг. было подготовлено создание Центра “Радикальное продление жизни”, затем членами Секции были созданы Центр биостимуляции, омоложения и продления жизни и другие научно- общественные фонды и учреждения, которые координировали, спонсировали и проводили собственные исследования по биологии старения и продления жизни, по изучению современных и древних способов и средств продления жизни и внедряли их в практику. В программах участвовали также сотрудники АН, АМН, медицинских институтов, ученые-энтузиасты и практики восточных и других психотехник.

В Московском медико-стоматологическом институте были создана Лаборатория геронтологии (зав. – д.м.н. Донцов В.И.), в которой работают несколько членов Секции. Ими было организовано издание с 1992 журнала “Старение и долголетие”, ими же организованы и проведены 1-я Всероссийская конференция “Медико-биологические вопросы нормального и патологического старения” 1993 г. и конференция “Проблемы продления жизни человека”(24 доклада, 85 участников), 1997.

В 1996-98 гг. члены Секции принимали активное участие в создании Национального геронтологического центра (НГЦ), в разработке его структуры (на базе нескольких институтов РАН и РАМН, медицинских институтов и учреждений), научных программ, практических мероприятий и

создании изданий НГЦ. НГЦ участвовал в разработках государственных программ “Профилактика старения”. Организован выпуск ежегодников НГЦ “Профилактика старения” и монографий, посвященных теории, механизмам и моделям старения, средствам и методам профилактики старения, биорегуляции, биоактивации, системным методам оздоровления человека и определения биологического возраста. Ежегодные выпуски НГЦ публикуются с 1998 г.

Члены Секции участвовали в создании Геронтологического общества РАН, которое объединяет все геронтологические организации и структуры в России, взаимодействует с международными организациями, проводит международные съезды и конференции, публикует отечественные и зарубежные научные статьи, информацию о состоянии геронтологии в мире и в России в периодическом журнале “Успехи геронтологии” и газете “Вестник геронтологии”. В Институте биохимической физики РАН регулярно проводятся научные семинары Московского филиала Общества.

Члены секции принимали активное участие в проведении ежегодных Международных геронтологических симпозиумов в Москве, С.-Петербурге и Самаре. Секция принимала участие: в подготовке и проведении Международной конференции “Старение и долголетие: системный и междисциплинарный подход”, Москва, 25-27 августа 1997 г. (144 доклада, 386 участников); “Современные технологии восстановительной медицины”, 1998., в проведении в Доме ученых ежегодных Международных клинико-практических конференций “Пожилой больной: качество жизни”, Москва, 1997-2012 гг.; в проведении 4-го Европейского конгресса по биogerонтологии, Москва, 18-21 июня 2002 г. Члены секции участвовали с докладами и сообщениями на всех Международных и Всероссийских конгрессах, съездах и конференциях: в Канаде, Испании, Австрии, Англии, Италии, Бельгии, С.-Петербурге, Москве, Харькове и Перьми.

Опубликованы книги и статьи в отечественных и зарубежных издательствах и в интернете, среди которых наиболее значимые публикации отражены в монографиях и Ежегодниках:

- В.И. Донцов, В.Н. Крутько, А.А. Подколзин. Старение: механизмы и пути преодоления. М., 1997, 240 с.
- Э.М. Яшин. Сверхдолголетие: как его достичь. М., 1999. 464 с.
- В.И. Донцов, В.Н. Крутько, А.А. Подколзин. Фундаментальные механизмы геропрофилактики. М., 2001. 464 с.
- М.И.Югай. Корень жизни и долголетия. Руководство по долголетию. 2008.
- А.А. Подколзин, В.Н. Крутько, В.И. Донцов. Количественная оценка показателей смертности, старения, продолжительности жизни и биологического возраста. Методическое пособие для врачей. М., 2001, 55 с.
- В.Н. Крутько, М.Б. Славин, Т.М. Смирнова. Математические основания геронтологии. М., 2002. 384 с.

- А.А. Подколзин, В.И. Донцов, В.Н. Крутько. Оптимизация профилактических, оздоровительных и геропротекторных мероприятий с использованием компьютерной системы “Диагностика и профилактика старения”. Методическое пособие для врачей. М., 2003.

- Ежегодники НГЦ “Профилактика старения”.
- Доклады МОИП. Общая биология (ежегодно).
- Доклады МОИП. Том. 41. Секция геронтологии, 2008, том 42, 2009, том 43, 2010, том 48, 2011, том 50, 2012.

- Донцов В.И., Крутько В.Н., Труханов А.И. Медицина антистарения. Фундаментальные основы. 2010.

- Донцов В.И. Экспериментальная геронтология, 2011.
- Донцов В.И. Новая иммунорегуляторная теория старения. 2012.
- Крутько В.Н., Смирнова Т.М. Человеческий капитал: проблема и ресурс инновационного развития России.
- серия методических пособий для врачей по диагностике и профилактике старения с использованием компьютерных программ.
- серия “Информатика здоровья и долголетия” (ред. В.Н.Крутько).

В настоящее время Секция Геронтологии включает 24 действительных членов и 13 членов-корреспондентов Общества. Среди них: член-кор. РАН, доктора и кандидаты наук, сотрудники институтов РАН и РАМН РФ, научно-исследовательских и учебных медицинских институтов и др.

Основными направлениями научной работы являются теоретические и экспериментальные исследования первичных причин и старения на популяционном, организменном, клеточном и молекулярном уровнях, разработка средств и способов продления жизни. Используются общebiологические, системные, биохимические, иммунологические, математические подходы и методы исследования. Особое внимание уделяется методологическим и общebiологическим аспектам решения проблемы старения, изучению причин и фундаментальных механизмов старения, разработке методов компьютерной диагностики старения, геропрoфилактики и биоактивации.

Научные заседания Секции проводятся ежемесячно. На докладах обычно присутствует 30-50 слушателей. Наиболее значимыми и интересными являются ежегодные итоговые заседания - Круглый стол “Возможности замедления старения и продления жизни”, на которых обсуждаются методологические и общebiологические подходы и методы решения проблемы старения, способы и средства продления жизни, возможности замедления и профилактики старения, биоактивации организма человека. Исследуются способы радикального продления жизни человека.

Председатель Секции Чернилевский Валерий Евгеньевич

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ

СТАРЕНИЕ – ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ: ПРИЧИНА, ГЛОБАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ.

*В.И.Донцов, В.Н.Крутько, О.В.Захарьяцева,
О.А.Мамиконва, Н.С.Потемкина, С.И.Розенблит*

Старение является общим свойством живых и неживых систем и представляет собой **износ**, деградацию, снижение порядка, структуры и функции системы. Общей причиной этих деструктивных процессов является второй закон термодинамики, изменяющий состояние системы в сторону повышения **энтропии**. Единственным механизмом противодействия нарастанию энтропии является поступление **внешней энергии**, «ремонт» системы, который осуществляется в общем случае как **замена старых** элементов системы на новые **на всех иерархических уровнях ее структуры**. Причиной старения живых систем является или генетически детерминированная **необновляемость** ряда структур (ведущим механизмом здесь является *стохастическое старение*) или **снижение** со временем скорости самообновления (ведущий механизм здесь – *регуляторное старение*). Регуляторный механизм также обеспечивает контроль периодов роста, развития и их прекращения (старения). Наиболее важным механизмом регуляторного старения является **регуляторное снижение клеточного самообновления** – снижение скорости роста и деления клеток. Последний процесс, ввиду регуляторной природы, является наиболее доступным и важным для разработки способов воздействия на старение живых организмов и включает возможность влияния на центральные, передаточные и периферические регуляторные элементы и сами клетки, что ведет к общему конечному эффекту – повышению **ростовых факторов** крови для самообновляющихся путем деления клеток внутренних органов, кожи, слизистых и пр.. Важнейшим элементом являются иммунные механизмы контроля клеточного роста соматических тканей. Необновляющиеся элементы организма могут быть замещены путем **механического протезирования** или **клеточной инженерии**, включая

клонирование или роботизацию всего организма. Для наиболее ценного в человеке — **сознания**, возможно сращивание с компьютерными системами и виртуальной реальностью. Возможным направлением является также **генная инженерия** с изменением видовых признаков, когда все элементы и системы в организме будут являться самообновляемыми, что эквивалентно созданию нового вида.

ВВЕДЕНИЕ (кризис экспериментальной геронтологии)

К настоящему времени насчитывают несколько сот теорий старения и количество их продолжает расти [8, 19, 20, 35-37, 43, 45-47, 49, 51, 53, 55-57, 59, 60, 64, 67, 76, 77], тем не менее, вопрос о причине феномена старения, главных его механизмах и возможности противодействия ему остается открытым, несмотря на огромное число исследований по частным механизмам старения и частным методам воздействия на него. У независимого наблюдателя создается впечатление, что общее решение вопроса лежит вне частных экспериментальных работ и вообще вне экспериментального метода исследования — это теоретический вопрос, где важную роль имеет научный общетеоретический метод исследования, а феномен старения относится к наиболее общим явлениям природы, не сводящимся к конкретным механизмам, как полагают авторы все новых «теорий старения».

На деле, вопрос о природе феномена старения, его основных механизмах и возможных путях воздействия, а также о возможных результатах такого воздействия, достаточно просто решается в общем виде на уровне современного теоретического анализа, который обычно называют «системным анализом» и который подходит для общего анализа любых сложных систем любой природы — физики, биологии, социологии и др. [6, 18, 19, 22-25, 40].

Общая теория старения, как любая общая теория, должна быть создана на высоком уровне абстракции, описывая старение как общее явление мира, а также указывать на наиболее общие механизмы старения и открывать принципиальные пути влияния на них, обязательно доводя рассмотрение до логического завершения; она должна допускать общее математическое представление, выводы из

которого не должны противоречить устоявшимся экспериментальным данным о старении, в частности, распределению вероятности возрастной смертности, а также явно указывать на главные физико-химические и биологические механизмы старения [3, 17-19, 22-25, 31, 43, 44, 49, 50, 57, 60, 67, 69, 73, 76, 77].

В данной публикации мы предельно кратко излагаем общую теорию старения, отвечающую всем этим требованиям.

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ КАК ОСНОВА ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕНОМЕНА СТАРЕНИЯ

С точки зрения теории систем, любой организм является сверхсложной иерархически устроенной (молекулы – клетки – ткани – органы и системы – целостный организм) системой с огромным числом элементов, функций, возможных биохимических и иных реакций, однако, для нашего рассмотрения достаточно только некоторых его наиболее общих свойств. Собственно, нужно лишь понять: почему со временем количество структур и функций такой системы снижается, а качество их ухудшается, и как этому можно, вообще говоря, противостоять.

При такой постановке задачи сразу же видны и общие ответы. Причиной деградации любых не полностью открытых систем в общем случае является действие второго закона термодинамики, приложимого к любым процессам в мире и направляющего самопроизвольное течение процессов в таких системах в сторону повышения **энтропии**, т.е. хаоса. Как на любую систему в природе, на организм влияет второй закон термодинамики, направляющий любые изменения в системе во времени в единственном направлении – в сторону повышения энтропии, что означает, в частности, снижение порядка, распад элементов, ухудшение их функции. Это и есть глобальная причина старения любых сложных систем, которая, в зависимости от структуры системы, может проявляться разными способами. Действительно, в зависимости от морфо-функциональной организации того или иного вида живого организма, конкретные проявления старения могут идти различными путями и

обуславливаться различными механизмами. Не удивительно, что количество теорий старения огромно и продолжает расти. Если обратить внимание на очевидный факт, что ни одна из теорий, вообще говоря, не отвергнута, но и не может объяснить старение сколь либо полно, сразу видна методологическая ошибка таких исследователей: частное, конкретные механизмы старения отдельных структур, выдается за общее – теорию старения, его причину, за принцип, который не может быть сведен к конкретным биохимическим или иным реакциям, так как принцип как научная категория существует на ином уровне научного метода.

ХАОС И САМООРГАНИЗАЦИЯ СИСТЕМ

Процессы хаоса, вместе с поступлением внешней энергии, формируют все множество нелинейных, развивающихся, динамических самоорганизующихся систем самой различной природы – физической, химической и биологической [12, 13, 28, 29, 30, 41, 50, 61, 75]. Еще Б. Гомперц отмечал сходство кривых изменения смертности и энтропии [44], а Перкс прямо писал, что неспособность противостоять разрушению имеет ту же природу, что и рассеяние энергии (то есть, старение эквивалентно увеличению энтропии, которая служит мерой неупорядоченности любой системы). А.Комфорт в своей классической "Биологии старения" (1967) прямо пишет о том, что загадочная "энтелехия" и "жизненность" на современном уровне понимания может быть сведена к достаточно конкретному, хотя и не вещественному субстрату – "в настоящее время представляется вполне вероятным, что информация, содержащаяся в клетках, и есть та "биологическая энергия", существование которой предполагалось ранее и о которой думали, что она растрачивается с возрастом".

Энергия необходима для получения Порядка из Хаоса, но она действует в конкретный условиях, по конкретному плану – на основе **информации** биологических систем (развитие на основе генетики организма), и путем **самокопирования** имеющихся биомолекул и биоструктур. Энтропия противодействует этому процессу путем

ошибок, которые с неизбежностью проявляются на всех уровнях. Ошибкам противостоят процессы метаболизма в ходе которого происходит устранение старых структур и замена их на новые, и **отбор** (естественный отбор для вида и иммунные и другие механизмы внутри организма), однако, отбор также подвержен неизбежным ошибкам и дает лишь материал для эволюции системы (организма).

Практически, внутри организма невозможно достичь бесконечной эволюции и усложнения, кроме того, ввиду самого существования организма как отдельной системы, организм принципиально смертен как отдельная единица, и отбор и эволюция не имеет достаточно времени и необходимости (как и возможности) для формирования нестареющего организма в котором ВНУТРИ него ПОЛНОСТЬЮ компенсируются ВСЕ ошибки и происходит полноценная эволюция и дальнейшее бесконечное РАЗВИТИЕ. На деле неизбежно накопление ошибок, прекращение развития и снижение упорядоченности в целом, что и есть старение. Общая схема этих процессов представлена на рис. 1.



Рисунок 1. Хаос, энергия и самоорганизация систем.

Известное с возрастом снижение общего метаболизма, снижение реактивности и устойчивости организма однозначно можно интерпретировать как снижение «открытости» системы, обновляемости и связи с внешней средой, а это – единственный путь

противодействия нарастанию энтропии в отграниченной от внешней среды системе; для клеток это прямо наблюдается как увеличение «загрязнений» в них – липофусцина, тяжелых металлов и пр., а также как увеличение морфологического разнообразия клеток и надклеточных структур с возрастом и т.п. На биохимическом уровне увеличение энтропии проявляется также снижением упорядоченности сети метаболизма, снижением уровня обмена макромолекул (репарации ДНК в первую очередь), накоплением «ошибок» (в том числе мутаций), снижением «активной протоплазмы» и т.п. Так, снижение «активной протоплазмы» можно четко измерять как степень склероза и накопления кальция в тканях, снижение дыхания тканей и уровня синтеза белка и ДНК, а также по содержанию общей и внутриклеточной воды и по уровню связанной воды – степени гидратации молекул и т.п.

Таким образом, можно видеть, что общие представления об энтропии как очень абстрактном показателе, прямо выливаются в целый ряд проявлений, смысл возрастных изменений которых можно четко понять только с учетом теоретических представлений о сущности, смысле и общей причине старения. Всегда имеет место баланс распада и синтеза структур, динамическое равновесие или отклонение от него – в сторону эволюции или старения.

ГЛОБАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ И ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ПРОТИВОДЕЙСТВИЯ

Процессу повышения энтропии как глобальной причине старения, как известно, можно противостоять только одним путем – внешней энергией, что живой организм и делает в ходе метаболизма. Однако, нас интересует прежде всего сохранение во времени неизменной **всей** сложной структуры системы-организма. Организм решает этот вопрос единственно возможным путем – заменой старых элементов на новые: процессы самообновления, ауторегенерации, катаболизма и анаболизма, основанные на генной информации, имеющейся в полной мере в каждой клетке, а также на основе

позиционной информации, взаимовлияния клеток и общих регуляторных механизмов (нервно-гуморальных и иммунных).

Заметим сразу, что обновление должно касаться **всех** иерархических уровней организации: молекул (метаболизм), клеток (клеточное деление), надклеточных структур как элементов органов и тканей – альвеолы, нефроны и пр. и самих органов и тканей (регенерация при заживлении ран, отрастание хвоста амфибий и пр.):

- на уровне молекул (метаболизм);
- на внутриклеточном уровне – обновление мембраны, субклеточных структур;
- на уровне клеточных популяций – деление клеток;
- на уровне надклеточных популяций (элементарные структуры органов и тканей);
- на уровне регенерации органов (собственно регенерация – хвост у аксолотля и пр.).

Чем выше уровень структуры, тем меньше возможность полного восстановления. Для неживых структур и для ряда структур у большинства живых организмов (нервные клетки, нефроны, альвеолы, зубы у человека и пр.) обновление не происходит. Существуют полностью не обновляющиеся (кроме метаболизма) организмы, например, мухи дрозофилы, являясь постмитотическими организмами, не имеют делящихся клеток, срок жизни для них детерминирован и очень мал, старение как процесс выражено и происходит целиком по стохастическому типу – случайная гибель клеток. В противоположность этому, существуют полностью обновляющиеся организмы, например, гидры не имеют необновляющихся клеток, их старение не выражено и продолжительность жизни не детерминирована.

Таким образом, можно выделить **два главных типа (механизма) старения** (рис. 2).

Первый главный механизм старения – необновляемость ряда элементов (нервные клетки, нефроны, альвеолы, зубы и т.п.) – так называемое **стохастическое старение**, так как причина его – в вероятностной гибели элементов. Действительно, жизнеспособность

любого отдельного структурного элемента ограничена, а не бесконечна, поэтому вероятность его гибели от самых различных причин (внешнего и внутреннего характера) также достаточно высока. Данный механизм определяет, например, гибель к 70-80 годам жизни практически половины альвеол и нефронов, до 80% нервных клеток в некоторых областях мозга и т.п.

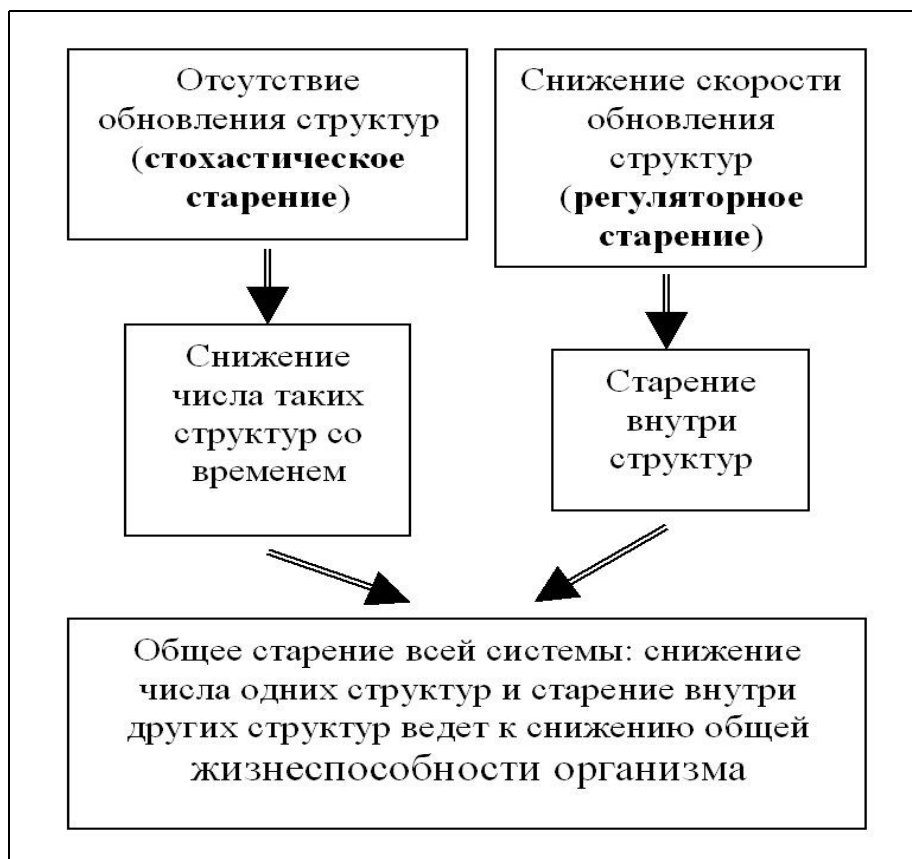


Рисунок. 2 Два главных типа (механизма) старения.

Второй глобальный механизм старения – снижение скорости обновления самообновляющихся структур (кожа, слизистые, паренхиматозные органы и др.) – так называемое **регуляторное старение**. Наибольшее значение имеет, видимо, снижение скорости клеточного роста и деления в старости, что легко видно по снижению с возрастом ростовых факторов крови.

Исходя из сказанного, возможно также **только два общих пути «антистарения»**: **протезирование** (техническая и биологическая замена «выбывающих» и вообще ухудшивших свою деятельность

элементов) и активация регуляторных механизмов самообновления, преимущественно клеточного роста.

КОНЕЧНЫЕ ИТОГИ ОСНОВНЫХ ПУТЕЙ ПРОТИВО-ДЕЙСТВИЯ СТАРЕНИЮ

Путь технического протезирования, уже сейчас широко используемый (искусственные зубы, искусственные органы (конечности, сердце, почки и др.), приведет нас естественным образом к искусственному телу, а затем и к искусственному мозгу.

Действительно, уже сейчас чипы-импланты значительно улучшают память старых крыс; вскоре возможны и комплексы компьютер-мозг, а затем и переход сознания на технический носитель: виртуальная реальность, жизнь в компьютере и Интернете. При этом возможны как полная утрата эмоций (не говоря уже о биологических чувствах и «радостях тела») – «холодный интеллект», так и полное моделирование всех возможных (и не возможных ранее) чувств в «виртуальной реальности» – «электронный сверхнаркотик». В любом случае это конец нашей цивилизации как биологического вида, при весьма сомнительном смысле и ценности нового способа существования.

Путь биологического протезирования (пересадки клеток, тканей и органов) уже сейчас широко используется не менее чем техническое протезирование (пересадки стволовых клеток, сердца, почек и др.). Еще в середине прошлого века проводились пересадки головы, сейчас проводятся в эксперименте пересадки отделов (а возможно и целого) головного мозга, а идеальный вариант реципиента, доступного уже в самом ближайшем будущем – собственный клон! Пойдем, однако, дальше. Так как стареет голова и мозг, особенно регуляторные центры гипоталамуса, идеально пересаживать только ответственные за сознание и память отделы мозга [1, 2], а еще лучше (см. выше), используя чип-технологии, пересаживать сознание в клон! Это с биологической точки зрения действительно радикальное решение задачи, причем в самом ближайшем будущем с использованием

практически уже имеющихся или находящихся на подходе технологий.

С древних времен известен также путь взятия под контроль физиологических и регуляторных процессов в организме психическим путем (йога и прочие так называемые **духовные психотехники**), что, в отличие от выше упомянутых методов противодействия старению, является наиболее гуманистическим методом и является дальнейшим развитием наиболее важного в человеке – его психики [16, 21].

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ СТАРЕНИЯ

Стохастический механизм старения.

Стохастический механизм старения является основным для необновляющихся структур – молекул (необновляемые гены), клеток (нервные), надклеточных структур (альвеолы, нефроны), органов (зубы) и т.п. и выражается в случайном уменьшении количества или потери функции элементов организма. Для ряда организмов (например, дрозофилы) данный механизм является доминирующим.

Его легко промоделировать (формула 1) – в простейшем случае число невозобновляемых элементов организма «X» будет вероятностным образом снижаться со временем «t», подобно распаду радиоактивных элементов:

$$dX/dt = -k X, \quad (1)$$

где k – коэффициент пропорциональности.

Принимая достаточно простое и логичное предположение, что жизнеспособность отдельного организма пропорциональна количеству нераспавшихся элементов, а вероятность его гибели – смертность (μ) обратно пропорциональна жизнеспособности ($\mu = 1/X$), из формулы (1) получают основную формулу (2) старения популяций Б.Гомперца и У.Мейкема [43, 44] – с возрастом смертность растет экспоненциально:

$$\mu = R_0 * \exp (\alpha * t) + A \quad (2)$$

где R_0 - начальный уровень смертности, α - скорость нарастания смертности со временем (с возрастом), A – коэффициент, характеризующий вклад в смертность внешних влияний, эффект которых не зависит от возраста.

Таким образом, элементами «жизнеспособности» Гомперца-Мейкема в данном случае являются необновляемые структурные элементы организма. Известно, что потеря альвеол и нефронов с возрастом достигает 50%, а нервных клеток в гипоталамических регуляторных центрах – 80% (что тесно связывает стохастический механизм с регуляторным механизмом старения).

Как отмечалось выше, в природе механизм старения стохастического типа реализован в полной мере у постмитотических животных (например, у дрозофил), у которых существуют только не обновляющиеся структурные единицы – все клетки у них постмитотические и количество данных клеток с возрастом только сокращается. Смертность в популяции таких организмов растет экспоненциально, строго по формуле Гомперца-Мейкема.

Данный механизм лежит в основе возрастного снижения числа функциональных элементов, но он не может объяснить, например, такого типичного для старения многих организмов явления, как атрофию тканей, состоящих из постоянно самообновляющихся клеток. Если учесть, что основная часть тканей в организме человека и многих других живых организмов может самообновляться за счет деления клеток, то можно сделать вывод о недостаточности рассматриваемого механизма для объяснения старения в целом.

Регуляторный механизм старения.

Вторым базисным механизмом старения является **снижение со временем скорости самообновления – регуляторный механизм старения.**

Классические определения старения, подчеркивая разрушительную природу старения, включают обычно оба возможных механизма старения, а также подчеркивают значимость генетически

детерминированной структуры организма для конкретного выражения старения: «Старение – многопричинный разрушительный процесс, вызываемый комплексом регуляторных и стохастических факторов и определяемый генетически детерминированной биологической организацией живой системы» [32].

В организме существует несколько онтогенетических регуляторных программ, главные из которых – программа роста, полового развития и становления иммунитета. Результатом исчерпания или возрастной дисфункции этих программ является прекращения роста, выключение полового цикла (климакс), возрастной иммунодефицит.

Главным, однако, должен являться механизм, ответственный за возрастное снижение клеточного самообновления – снижение роста и деления клеток.

Старение как следствие регуляции роста и развития (стохастически-регуляторный общий механизм старения)

В общем случае оба типа старения имеют место и взаимодействуют между собой различными путями и способами. В простейшем случае, когда необновляющиеся элементы высвобождают активирующий самообновление фактор (H, helper), снижение их числа ведет к уменьшению уровня рост-стимулирующих факторов и таким образом снижает самообновление – проявление регуляторного механизма старения. Однако, этот же механизм способен также обеспечить регуляцию роста и развития живой системы, а также прекращения этого развития в нужный момент, для чего достаточно иметь комбинацию 2-х необновляющихся регуляторных элементов – стимулирующего (H) и ингибирующего (S, supressor) типов, с различной кинетикой гибели [5-8]. Известно, что нервные регуляторные клетки (H и S типов) сосредоточены в гипоталамусе, в ядрах которого наблюдается с возрастом гибель до 80% этих клеток. Растворивание стимулирующих клеток дает постоянный растущий градиент стимулирующего фактора с максимумом вблизи полной гибели ингибирующей популяции. Такой

градиент, например, половых гормонов (конечных реализующих регуляцию факторов для данной функции) ведет к включению полового созревания.

Если исходить из наиболее простого допущения, что регуляторные клетки с возрастом изнашиваются и в результате гибнут случайно и равновероятно, и не возобновляются, то возрастная динамика этих клеток будет описываться уравнениями, используемыми для описания радиоактивного распада, а именно, системой (3) 2-х линейных дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} dH/dt &= -k_h * H; \\ dS/dt &= -k_s * S, \end{aligned} \quad (3)$$

- где H , S –соответственно, обозначает количество стимулирующих и ингибирующих клеток; k_h , k_s , – коэффициенты интенсивности вероятностной гибели клеток.

Решение данных уравнений дает:

$$\begin{aligned} H &= H_0 * \exp(-k_h * t); \\ S &= S_0 * \exp(-k_s * t), \end{aligned} \quad (4)$$

- где H_0 и S_0 - начальные значения количеств соответствующих клеток в момент появления организма на свет.

Далее, исходя из наиболее простого допущения о том, что уровень конечного регуляторного фактора F в организме в каждый момент времени пропорционален разности между количеством стимулирующих его производство и ингибирующих клеток, получаем в общем случае соотношение:

$$F = k_f * (H - S) + C, \quad (5)$$

- где k_f – коэффициент пропорциональности, C – константа.

Если считать регуляторный фактор главным фактором жизнеспособности, обеспечивающим интегральное функционирование организма как системы, в частности управляющим регенерацией ее восстанавливаемых элементов, то можно принять допущение о том, что его величина F характеризует жизнеспособность организма, в простейшем случае – пропорциональна ей. Тогда для смертности, как для величины обратной

жизнеспособности, получим выражение:

$$\mu = k_{\mu} * 1/F, \quad (6)$$

- где k – коэффициент пропорциональности.

Если предположить также, что ингибирующие клетки быстрее разрушаются с возрастом (их функция исчерпывается периодом развития), то из уравнений (4-6), можно получить динамику моделируемых переменных, показывающую очень хорошее качественное соответствие реальной кривой смертности у млекопитающих и человека (рисунок 3), в отличие от первого чисто стохастического механизма, позволяющего моделировать только среднюю часть кривой смертности с помощью уравнения Б.Гомперца.

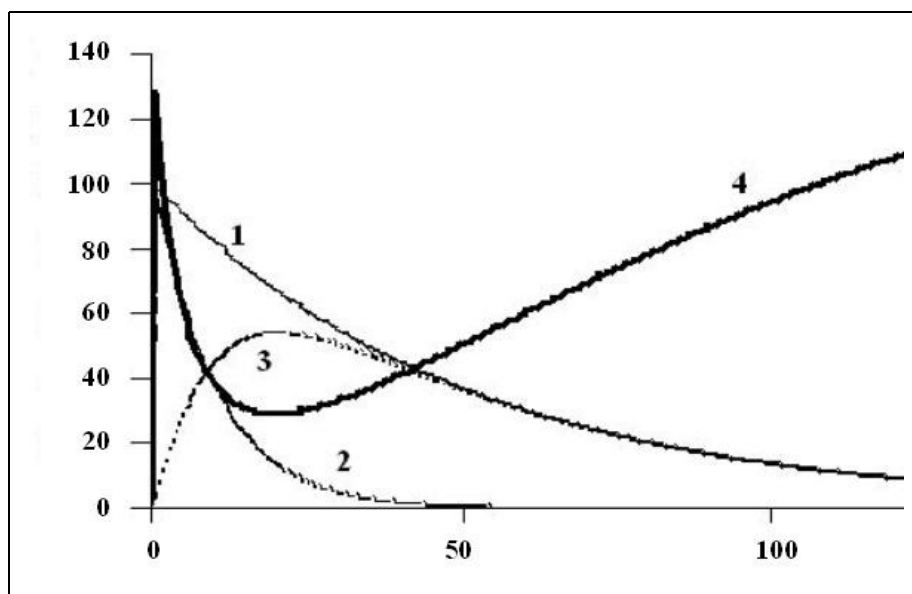


Рисунок 3. Возрастная динамика основных интегральных характеристик организма в соответствии со стохастически-регуляторной общей теорией старения.

По вертикали – значения параметров, по горизонтали – возраст в условных единицах.

1 – количество клеток-стимуляторов (H) для начального $H_0 = 100$ при спонтанной гибели 1% клеток за единицу времени, 2 – количество клеток-ингибиторов (S) для начального $S_0=100$ при спонтанной гибели 5% клеток за единицу времени, 3 – уровень регуляторного фактора F , 4 – логарифм смертности $\lg \mu$.

В отличие от чисто стохастической модели старения, стохастически-регуляторная модель позволяет воспроизвести все три главные качественные характеристики графика смертности для человека и млекопитающих: быстрый спад в раннем возрасте, экспоненциальный подъем в средних и старших возрастах, замедление подъема в позднем старческом возрасте. Такой результат, при очень простых и естественных допущениях, пока еще не был получен ни в одной из существующих моделей старения.

Проведенное рассмотрение позволяет сделать вывод об **определяющей роли процессов регуляции для старения млекопитающих**. Важнейшим фактором, определяющим старение в этом случае, является **скорость гибели H клеток**.

Учитывая тот факт, что в организме имеются достаточно длительно живущие неделяющиеся нервные клетки в различных отделах мозга, можно говорить о принципиальной возможности резкого замедления старения, например, путем замены (трансплантации) быстро гибнущих клеток-регуляторов длительно живущими или молодыми.

Главный механизм регуляторного старения – ограничение клеточного деления

Резонно полагать, что фактор F должен влиять на основной базовый процесс обновления.

Так как метаболизм в целом не слишком выраженно снижается с возрастом, в отличие от скорости клеточного роста и деления (в печени, например, на несколько порядков!), а более высокие системы регенерации обычно ответственны за экстремальную – репаративную регенерацию, то представляется, что для большинства живых организмов наиболее важным базовым механизмом старения является **регуляторное снижение клеточного самообновления** – снижение скорости роста и деления клеток (рисунок 4).

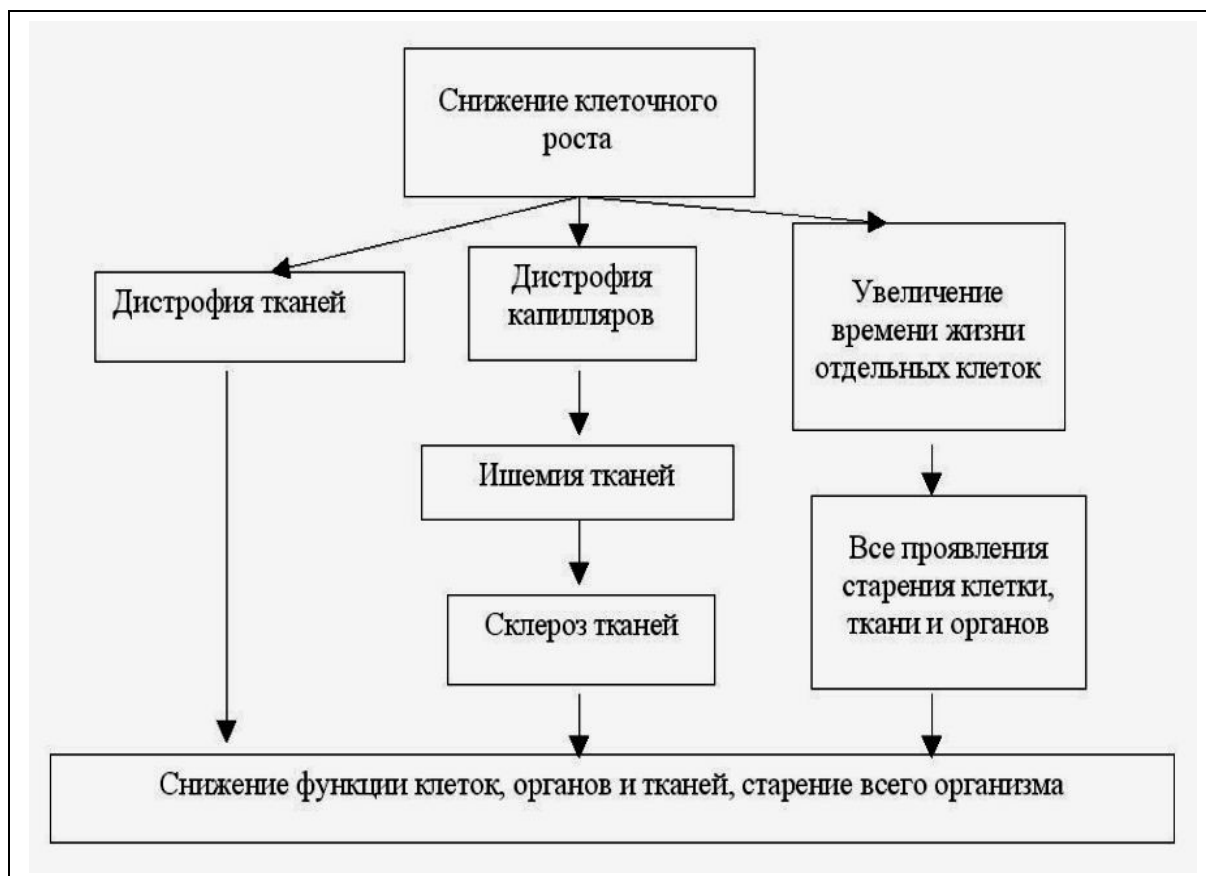


Рисунок 4. Снижение клеточного роста как главный механизм регуляторного типа старения.

ЧАСТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЕ, ВЫТЕКАЮЩИЕ ИЗ ГЛОБАЛЬНЫХ ПРИЧИН (Принципиальная полифункциональность и множественность механизмов проявлений старения)

Глобальные механизмы старения проявляются конкретными, частными механизмами, в зависимости от конкретной морфофункциональной природы стареющих элементов.

Так, механизм потери необновляемых элементов в случае альвеол приводит к их потере и возрастной эмфиземе. К старости теряется до половины альвеол. Причины этого – самые различные: местное воспаление, локальные нарушения вентиляции, схлопывания альвеол при нарушениях обмена сурфактанта, местные нарушения циркуляции крови и лимфы и пр. Вне зависимости от причины, гибель альвеол ведет к компенсаторной гипертрофии оставшихся, утончению альвеол, нарушениям обмена кислорода и углекислоты и в

конечной счете к дыхательной ишемии, а в более общем масштабе – к снижению жизненной емкости легких и снижению общей адаптации по причине дыхательной недостаточности.

Аналогичным образом, потеря других элементов органов и тканей ведет к другой картине иных нарушений, что создает в целом пеструю картину возрастных изменений.

Многообразие изменений как раз и порождает различные «теории старения», при этом противодействие одним частным механизмам мало влияет на другие. Более общие механизмы гибели необновляемых элементов, как правило, изменить не удастся. Так, наиболее общим механизмом повреждений макромолекул и клетки является тепловое движение молекул, которое, с другой стороны, является необходимым условием метаболизма.

Сходным образом, регуляторное снижение клеточного обновления, например, для клеток капилляров, ведет к резкому обеднению капиллярной сети с возрастом и ишемии тканей, что, в свою очередь, ведет к возрастному склерозу тканей: соединительная ткань «вытесняет благородные элементы» активной паренхимы органов.

ОБЩИЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ СТАРЕНИЯ

Влияния на основные механизмы гибели клеток.

Широко известным общим механизмом повреждения макромолекул являются свободные радикалы, поэтому антиоксиданты, введение генов ферментов, разрушающих свободные радикалы, снижение температуры тела и др. снижают вероятность гибели необновляемых клеток и удлиняют сроки их жизни [42, 51, 68, 33, 37, 63]. Однако, это эффективно только для организмов с преимущественным стохастическим старением, например, для дрозофил, у которых нет деления клеток; тогда как у мышей и других организмов с наличием замещения клеток путем клеточного деления, эти влияния не слишком эффективны; к тому же, в процессе эволюции эффективность имеющихся в организме млекопитающих систем противодействия свободным радикалам доведена до совершенства, которое трудно

улучшить. У разных видов животных длительность жизни в целом тем выше, чем выше отношение инактивации свободных радикалов (удельная активность СОД) к их продукции (потребление кислорода на единицу массы тела). Анализ литературы показывает, однако, что антиоксиданты продлевают жизнь лишь при наличии недостаточности системы антиоксидантной защиты и усиленной продукции свободных радикалов; в случае нормального состояния упомянутой системы никакого увеличения жизни нет, а при гиперстимуляции – вообще снижается продолжительность жизни в эксперименте, что ставит под сомнению свободно-радикальную теорию старения [66, 68, 70, 72].

Механизмы снижения функций и их замещения внешними средствами.

Еще одним известным частным механизмом старения является снижение с возрастом самых различных функций органов и систем. Так, с возрастом выражено снижаются функции желудочно-кишечного тракта с развитием витаминно-микроэлементной недостаточности, что определяет правомерность использования ферментов, биологически активных пищевых добавок, специального питания для пожилых и пр. Аналогично, известна заместительная гормональная терапия климаксу и профилактики атеросклероза у женщин, возможны и иные заместительные влияния для самых различных функций. В принципе, это тот же принцип «внешнего протезирования», который ставит пожилой организм во все большую зависимость от искусственно создаваемой для него среды.

Механизмы «загрязнения» и «очистки».

В биологической проточной системе невозможна «полная проточность» (когда ВСЕ субъединицы системы обновляются полностью). Соответственно этому, широко известным частным механизмом старения является «загрязнение» клеток и тканей инертными или токсическими метаболитами и внешними интоксикантами. Поэтому так популярны различные методы

детоксикации и «очистки организма». В случае нервных клеток, протоплазма которых может быть засорена с возрастом инертным липофусцином (до 80% объема клетки), эффекты «очистки», например, центрофеноксином, оказывают выраженный ноотропный эффект.

Радикальные влияния на старение.

Радикальный путь влияния на необновляющиеся элементы организма – искусственное возмещение их потери: путем **механического протезирования** или **клеточной инженерии**.

В первом случае это ведет к биороботизации, а затем и к полностью механическому роботу с переводом сознания в компьютер.

Во втором случае, в пределе, к клонированию тела и пересадке головы или мозга, или, к более пока фантастичному варианту – пересадке сознания в клон.

Возможным перспективным направлением является также **генная инженерия** с изменением видовых признаков, когда все уровни организации и системы в организме будут являться самообновляемыми, что является фактически созданием нового вида, так как при этом изменения должны касаться очень многих признаков организма.

С древних времен известен также путь взятия под контроль физиологических и регуляторных процессов в организме психическим путем (йога и другие **духовные психотехники**), что, в отличие от выше приведенных методов противодействия старению, является наиболее гуманистическим методом и предполагает дальнейшее развитие наиболее важного в человеке – его психики.

Регуляторное старение, именно в силу его изменчивой регуляторной природы, является наиболее доступным и важным объектом для разработки способов воздействия на старение живых организмов и включает возможности влияния на центральные, передаточные и периферические регуляторные элементы и сами клетки. Все эти влияния направлены на противодействие общему

конечному эффекту – возрастному снижению ростовых факторов крови для самообновляющихся путем деления клеток внутренних органов, кожи, слизистых и пр. [3, 7, 24].

Нами показано, что важнейшим регуляторным механизмом при старении является ограничение рост-стимулирующих влияний на соматические клетки организма со стороны особой популяции лимфоцитов, ответственной не за иммунные функции, а за рост и деление соматических клеток [11, 13, 18, 19], что объясняет известное благоприятное влияние иммунофармакологических средств на старение и выраженные изменения системы клеточного иммунитета при старении [3, 7, 19, 14, 15, 19, 42, 58, 71].

Новая иммуно-регуляторная теория старения.

Исходя из анализа имеющихся в литературе и собственных данных, мы предположили, что **главной, филогенетически более древней функцией системы иммунитета, осуществляемой Т-клетками, является функция регуляции клеточного роста "своих" клеток.** В таком случае, иммунная система в ее традиционном понимании – это только специализировавшаяся в отношении элиминации "чужого" часть более сложной и общей системы – клеточной системы регуляции пролиферации и роста соматических тканей [6, 9, 8, 11, 19], которая «подключилась» также и к регуляции пролиферации антиген-чувствительных клонов лимфоцитов-эффекторов собственно системы иммунитета. Нами были выделены и охарактеризованы такие Т-регуляторы роста различных соматических клеток организма, изучена их кинетика, особенности фенотипа, реакция на некоторые фармакологические агенты, выделение регуляторных факторов, специфических для соматических клеток и другие фактические данные. Приведенные выше факты позволили нам сформулировать новую «иммуно-регуляторную теорию старения», учитывающую роль Т-клеток в снижении клеточного роста в старости [8, 9, 11, 34].

Основные ее положения могут быть сведены к следующему:

1. Ведущим механизмом старения для самообновляющихся в ходе физиологической регенерации соматических тканей является **снижение их клеточного самообновления**.

2. Снижение скорости клеточного роста (и самообновления) соматических тканей при старении определяется **изменениями в системе Т-лимфоидной регуляции** роста и деления соматических клеток (возрастной иммунодефицит специфических популяций Т-лимфоцитов - регуляторов). Это ведет к снижению скорости продвижения соматических клеток из фазы G_1 в S, формируя известный G_1/S блок в тканях старых животных.

3. Прогрессирующее снижение пролиферативной активности клеток соматических тканей ведет к увеличению доли "старых" клеток, при этом "старческие" изменения являются результатом проявления нормальных свойств таких, углубившихся в состояние дифференцировки, клеток с длительным периодом жизни. Так как в тканях всегда идут процессы замещения молодыми клетками, наряду с процессами старения формируются процессы приспособления, гипертрофии и пр.

4. Изменения системы КРП являются **результатом продолжения действия регуляторов ограничения роста организма** после того, как рост закончен, при участии гипоталамо-гипофизарной системы и тимуса.

Экспериментальные данные, подтверждающие эти выводы, получены нами в ряде экспериментов [6-19], их можно найти также при анализе экспериментов многих исследователей. Так, лимфоциты способны передавать признаки старения от старых мышей молодым [3] и наоборот [6-19]; активировать регенерацию органов у интактных животных при переносе от мышей с повреждением одноименных органов и, наоборот, индукция регенерации влияет на иммунную реакцию [3, 20, 26, 33, 74]; лимфоциты влияют на процессы дифференцировки клеток различного типа [27, 52]; часть лимфоцитов участвует не в иммунном ответе «на чужое», а в реакции «на свое» в так называемой сингенной смешанной культуре лимфоцитов [7, 34, 54]; лимфоциты способны пассивно переносить компенсаторную [31]

или фармакологически-индуцированную гипертрофию органов [7] и рост всего организма; лимфоциты влияют на рост клеток опухоли [9, 10]. Тимус, как и вся система иммунитета, находится под контролем гипофиза и гипоталамуса [2, 5, 48], включаясь в общую систему регуляции роста и развития организма.

На необходимость существования специальной клеточной системы, регулирующей рост соматических клеток, указывает также теоретическое моделирование взаимодействующих растущих клеточных популяций, что приводит к формированию саморегулирующегося «клеточного гиперцикла» и затем к выделению в эволюции специальной системы клеток, ответственных именно за клеточный рост самых различных соматических клеток в организме [6, 8, 9, 12, 19].

Предлагаемая новая теория имеет не только теоретический интерес, но и позволяет использовать весь потенциал иммунофармакологии для противодействия одному из важнейших механизмов старения – снижению с возрастом клеточного самообновления у многоклеточных, в том числе у млекопитающих и человека.

Пути восстановления истощенных с возрастом регуляторных программ роста и деления клеток

Проблема восстановления и коррекции регуляторных программ мозга является центральной в возрастной биологии, так как многие функции организма (половая, иммунная, уровень метаболизма, общий гормональный фон и баланс разных типов гормонов, нервная трофика, программа роста и др.) подвергаются резким изменениям в течение жизни именно вследствие запрограммированных изменений в регуляторных центрах (гипоталамуса и др.).

Разработанные в последние годы методы трансплантации мозговой эмбриональной ткани позволяют начать работы по восстановлению истощенных регуляторных программ у старых животных. Показана в литературе возможность восстановления данным методом половой функции у старых крыс; показана

возможность восстановления ЭЭГ и условно-рефлекторной деятельности у старых кроликов [1]. Нами показана возможность восстановления иммунокомпетентных клеток у мышей BALB/c в возрасте 20-22 мес. пересадкой ткани эмбрионального гипоталамуса в область заднего гипоталамуса старых реципиентов [2]. Опытные животные становились также более подвижными, упитанными, шерсть, клочковатая в этом возрасте, становилась гладкой и лоснящейся, сглаживался старческий горб, увеличивались масса и рост.

Альтернативой хирургическому вмешательству служат методы фармакологической или физиотерапевтической активации соответствующих ядер гипоталамуса, а также создание новых регуляторных центров и водителей ритмов в том числе с применением психотерапевтических техник, гипноза и пр. Известны нейрофармакологические средства, «очищающие» нервные клетки от липофусцина и активирующие мозговые функции (центрофеноксин и др.), а также множество средств влияющих на медиаторы (ноотропил, депренил, фенитоин) и метаболизм (ДМАЭ и др.) нервных клеток, из которых можно было бы создать высоко эффективные «коктейли».

Пересадки иммуннокомпетентной ткани – пожалуй, самый эффективный (после голодания, влияющего на скорость роста и развития в целом) экспериментальный метод продления жизни. Эффективно и длительное введение лимфокинов. Показано наличие у молодых животных в сыворотке крови факторов, увеличивающих потенциал клеточного роста при введении старым животным [11, 19]. Известны также выраженные влияния экстрактов некоторых рыб на состояние кожи (и видимо, других обновляющихся тканей) – на их основе разработан, например, препарат «Имедин».

Ряд работ Гаркави с соавт. показали возможность активации нервных центров и удержание их на высоком уровне активности, что эквивалентно высокой тренированности и повышению пределов адаптации; ими же показано общеомолаживающее действие таких процедур у крыс [5]. Методы транскраниальной электростимуляции на основе избирательного резонанса структур мозга позволяет

избирательно активировать определенные нейрорегуляторные структуры, повышать общую адаптацию и клеточный рост при ранах и ожогах. Наконец, до сих пор плохо используется высокая функциональная пластичность мозга. Между тем широко известны как случаи быстрого старения, развития седины, при психических травмах, так и возможность обратного развития такого «психогенного старения».

Практикуемые в течение тысяч лет йогами психотехнические приемы включают и приемы омоложения. Интересно, что анализ таких методов показывает направленность их на регуляторные центры мозга и взятие их под активный психический контроль. Обычно начинают с практик концентрации внимания и визуализации психических процессов с концентрацией в области лба – функций произвольного внимания. Затем визуализированный свет проецируют на область затылка – эпифизарно-гипоталамически-гипофизарный комплекс. Когда удастся визуализировать его активность, проявляющийся золотой свет – «нектар бессмертия» – «амриту» продвигают мысленным усилием вниз, насыщая все области тела, что у адептов таких практик сопровождается выраженными внешними признаками общего оздоровления и омоложения. Исследования данного процесса с помощью ЭЭГ-топической локализации функций, с избирательной электромагнитной стимуляцией и иными современными подходами могут позволить уже сейчас достичь прорыва в этой области, с широким тиражированием методик.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Старение является общим свойством живых и неживых систем и представляет собой **износ**, деградацию, снижение порядка, структуры и функции системы. Причиной деградации не полностью открытых систем в общем случае является второй закон термодинамики, изменяющий их состояние в сторону повышения **энтропии**.

Единственным механизмом противодействия нарастанию энтропии является поступление **внешней энергии** – «ремонт» системы, который осуществляется в общем случае как **замена старых**

структур на новые; для живой системы это самообновление молекул, клеток и надклеточных структур.

Единственной причиной старения сложной не полностью открытой системы – организма при наличии обновления является **недостаточность обновления**, которая реализуется двумя основными путями – генетически детерминированная **необновляемость** ряда структур, которые могут только разрушаться (стохастический механизм старения) или **снижение** со временем скорости самообновления – регуляторный механизм старения; а реально – оба процесса в их взаимодействии.

Регуляторный механизм способен также обеспечить контроль периодов роста, развития и их прекращения (старения) для живой системы. Данный механизм, в свою очередь, снижает свою функцию (стареет) за счет действия на него стохастического механизма – самопроизвольной (или направляемой, например, апоптозом) гибели клеток центров регуляции.

Наиболее важным механизмом регуляторного старения является **регуляторное снижение клеточного самообновления** – снижение скорости роста и деления клеток. Последний процесс, ввиду регуляторной природы, является наиболее доступным и важным для разработки способов воздействия на старение живых организмов и включает возможность влияния на центральные, передаточные и периферические регуляторные элементы и сами клетки, что ведет к общему конечному эффекту – повышению **ростовых факторов** крови для самообновляющихся путем деления клеток внутренних органов, кожи, слизистых и пр.

Необновляющиеся элементы организма могут быть замещены путем **механического протезирования** или **клеточной инженерии**, включая клонирование или роботизацию всего организма. Для наиболее ценного в человеке – **сознания**, возможно в перспективе сращивание с компьютерными системами и виртуальной реальностью.

Перспективным направлением является также **генная инженерия** с изменением видовых признаков, когда все уровни

организации и системы в организме будут являться самообновляемыми, что эквивалентно созданию нового вида.

С древних времен известен также путь взятия под контроль физиологических и регуляторных процессов в организме психическим путем (йога и прочие так называемые **духовные психотехники**), что, в отличие от выше упомянутых методов противодействия старению, является наиболее гуманистическим методом и является дальнейшим развитием наиболее важного в человеке – его психики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ата-Мурадова Ф.А., Черкасова В.А.//ДАН, 1986. Т. 290. N 2. С. 496.
2. Ата-Мурадова Ф.А., Донцов В.И. Эффект трансплантации эмбрионального гипоталамуса на лимфоидную ткани старых мышей//ДАН СССР. 1987.Т.297.№1.С.237-240.
3. Бабаева А.Г. Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции нелимфоидных клеток//Бюл. Эксп. Биол. Мед. 1995. №9. С.230-234.
4. Babaeva A.G., Zuev V.A. Transfer of signs of aging to young mice by splenic lymphoid cells from old syngeneic donors//Bull. Exp. Biol. Med. 2007. Vol.144. P.89-90.
5. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Год: 1988.М.:ИМЕДИС. 565 с.
6. Донцов В.И. Применение теории гиперцикла для анализа процессов межклеточной регуляции пролиферации тканей//Успехи современной биологии. 1986. Т.101. Вып.1. С.18-20.
7. Донцов В.И. Изопротеренол-индуцированная лимфоцит-зависимая гиперплазия слюнных желез у мышей – возможный аналог сингенной смешанной культуры лимфоцитов in vivo//Бюл. эксперим. биол. мед.1987.N.11.С.618-620.
8. Dontsov V.I.. Theoretical prerequisites for an experimental corroboration of the existence of a specialized cellular system in control of multicellular organism tissue proliferation//J.Hyg.Epidemiol.Microbiol. Immunol. 1987. Vol.31. P.209-217.
9. Донцов В.И. Регуляция лимфоцитами клеточной пролиферации - альтернатива теории «противоопухолевого надзора»?//Иммунология. 1989. N. 5. С. 94-96.
10. Донцов В.И. Эффекты лимфоцитов на рост трансплантируемой аденокарциномы кишечника у мышей//Эксперим.Онкол.1989.№5.С.48-51.

11. Донцов В.И. Иммунобиология постнатального развития. М.: Наука. 1990. 152 с.
12. Донцов В.И. Самоорганизация пролиферирующих клеточных систем: основа взаимодействия, функционирования и эволюции//Физиология человека.1990.№4.С.147-157.
13. Донцов В.И. Структурные модели регуляции клеточного роста и новая иммунная теория старения//Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2008. № 4. С. 125-127.
14. Донцов В.И., Крутько В.Н., Кудашов А.А., Санталова В.А., Чижов А.Я., Ванюхина М.А. Иммуномодуляторы как геропротекторы: геропротективный эффект «Трансфер-фактора»//Вестник РУДН Серия «Экология безопасность жизнедеятельности». 2009. №2. С.57-59.
15. Донцов В.И., Крутько В.Н., Кудашов А.А., Ванюхина М.А., Санталова В.А., Чижов А.Я. Иммуномодуляторы как геропротекторы: восстановление потенциала клеточного роста тканей старых мышей посредством иммуномодулятора «Трансфер-фактор»//Вестник РУДН Серия «Экология безопасность жизнедеятельности». 2009. № 3. С.104-106.
16. В.И.Донцов Культурные традиции Запада и Востока в поисках бессмертия. Доклады МОИП. Серия геронтология. 2010. Т.43. С.146-166.
17. Донцов В.И. Крутько В.Н. Труханов А.И. Медицина анти-старения: фундаментальные основы. М.:Издательство URSS. 2010. 680 с.
18. Донцов В.И., Крутько В.Н. Моделирование процессов старения: новая иммуно-регуляторная теория старения//Успехи современной биологии. 2010. Т.130. №1. С.3-19.
19. Донцов В.И. Новая иммунная теория старения: лимфоциты как регуляторы клеточного роста. Lambert Academic Publishing.2011.114 с.
20. Евнин Д.Н. Особенности иммунного ответа у животных, подвергнутых частичной гепатэктомии//Бюл. эксперим. биол. мед. 1979. №9. С.61-63.
21. Классическая йога. М.: Наука. 1992. 260 с.
22. Крутько В.Н., Донцов В.И., Сердакова К.Г. Старение: системный взгляд//Труды ИСА РАН, 2006 г. т.19. с. 5-32.
23. Крутько В.Н., Донцов В.И. Системные механизмы и модели старения.М.:Изд-во ЛКИ. РАН, ИСА РАН. НГЦ. МГМСУ. 2008. 336 с.
24. Крутько В.Н., Донцов В.И., Захарьяшева О.В. Системная теория старения: Методологические основы, главные положения и приложения //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2009. Т. 43. № 1. С.12-19.
25. Крутько В.Н. Профилактика старения как системная технология//Вестник РАН, 2006, Т.76. №9. С. 790-797.
26. Кульберг А.Я., Евнин Д.Н. О природе гуморального фактора, возникающего при гепатэктомии и усиливающего иммунный ответ//Бюл. эксперим. биол. мед. 1974. №3. С.83-86.

27. Нестеренко В.Г. Иммунологическая регуляция дифференцировки соматических клеток//Успехи современ. биол. 1980. Т.90. Вып.2. С.211-220.
28. Николис Г., Пригожин И. Самоорганизация в неравновесных системах. М.: Мир. 1979. 512 с.
29. Пригожин И. Введение в термодинамику необратимых процессов. М.: ИЛ. 1960. 520 с.
30. Пригожин И., Стенгерс И. Порядок из хаоса: новый диалог человека с природой. М.: Прогресс. 1986. 430 с.
31. Свет-Молдавский Г.Я., Шхвацабая И.К., Зинзар С.Н. Изучение пассивного переноса лимфоидным клетками компенсаторной гипертрофии миокарда//Доклады АН СССР. 1974. Т.218. N.4. С. 246.
32. Фролькис В.В., Мурадян Х.К. Старение, эволюция и продление жизни. Киев: Наук, думка, 1992. 336 с.
33. Шилова Л.Я., Полторакин В.С., Суслова А.Г. Влияние лимфоцитов селезенки доноров, обработанных четыреххлористым углеродом, на митотическую активность печени и продукцию альфа-фетопroteина у сингенных реципиентов//Бюл.эксперим.биол.мед. 1982. N 6. С.99.
34. Шубинский Г.З., Лозовой В.П. Аутологическая смешанная культура лимфоцитов человека//Иммунология. 1986. №6. С.25-30.
35. Afanas'ev I. Signaling and Damaging Functions of Free Radicals in Aging-Free Radical Theory //Aging Dis.2010.Vol.1.P.75-88.
36. Alonso-Fernández P., De la Fuente M. Role of the immune system in aging and longevity//Curr Aging Sci. 2011. Vol.4. P.78-100.
37. Atwood C.S., Bowen R.L. The reproductive-cell cycle theory of aging: an update//Exp Gerontol. 2011. Vol.46. P.100-107.
38. Berdasco M., Esteller M. Hot topics in epigenetic mechanisms of aging//Cel Aging Cell. 2012. Vol.11. P.181-186.
39. Burhans W.C., Weinberger M. DNA replication stress, genome instability and aging//Nucleic Acids Res. 2007. Vol.35. P.7545-7556.
40. Checkland P.B. System Thinking. System practice. J.Willey and sons. Chichester. 1986. 380 p.
41. Eigen M., Schuster P. The hypercycle. A principle of natural self-organization. Part A: Emergence of the hypercycle//Naturwissenschaften. 1977. Vol.64. P.541-565.
42. Fuente M.L., Cruces J., Hernandez O., Ortega E. Strategies to improve the functions and redox state of the immune system in aged subjects//Curr Pharm Des. 2011. Vol.17. P.3966-3993.
43. Gavrilova N.S., Gavrilov L.A. Search for mechanisms of exceptional human longevity//Rejuvenation Res. 2010. Vol.13. P.262-264.
44. Gompertz B. On the nature of the function expressive of the low human mortality and new model of determining life contingencies//Philos. Trans. Roy. Soc. London A.,1825. Vol.115, P.513-585.

45. Gruber J., Schaffer S., Halliwell B. The mitochondrial free radical theory of ageing-where do we stand?//Front Biosci. 2008.Vol.13. P.6554-79.
46. Flatt T., Schmidt P.S. Integrating evolutionary and molecular genetics of aging//Biochim Biophys Acta. 2009. Vol.1790. P.951-962.
47. Freitas A.A., de Magalhães J.P. A review and appraisal of the DNA damage theory of ageing//Mutat Res. 2011. Vol.728. P.12-22.
48. Harrison D.E., Archer J.R., Astie C.M. The effect of hypophysectomy on thymus age in mice//J.Immunol. 1982. Vol.129. P.2673-2677.
49. Hayflick L. Biological aging is no longer an unsolved problem//Ann. N. Y. Acad. Sci. 2007. Vol.1100. P.1-13.
50. Hayflick L. Entropy explains aging, genetic determinism explains longevity, and undefined terminology explains misunderstanding both//PLoS Genet. 2007. Vol.3. P.220.
51. Hekimi S., Lapointe J., Wen Y. Taking a "good" look at free radicals in the aging process// Trends Cell Biol. 2011. Vol.21. P.569-576.
52. Horowitz M., Vignery A., Gershon R., Baron R. Thymus-derived lymphocytes are required for the production of osteoclast-activating factor in the mouse //Proc.Nat.Acad.Sci.USA.1984.V.81.P.2181.
53. Hughes K.A. Mutation and the evolution of ageing: from biometrics to system genetics//Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2010. Vol.365. P.1273-9.
54. Indeverly F., Barabino A., Pierri I. etc. Human autologous mixed lymphocyte reaction//Ric. Clin. et lab. 1983. Vol.13. P.397-409.
55. Jang Y.C., Remmen V.H. The mitochondrial theory of aging: insight from transgenic and knockout mouse models//Exp Gerontol. 2009. Vol.44. P.256-260.
56. Kennedy S., Loeb L.A., Herr A.J. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration// Mech Ageing Dev. 2012. Vol. Vol.133. P.118-126.
57. Kirkwood T.B., Melov S. On the programmed/non-programmed nature of ageing within the life history//Curr Biol. 2011. Vol.21. P.701-707.
58. Linton P., Thoman M.L. T cell senescence//Front. Biosci. 2001. Vol.6. P.248-261.
59. Meissner C. Z. Mutations of mitochondrial DNA - cause or consequence of the ageing process?//Gerontol Geriatr. 2007. Vol.40. P.325-333. Review.
60. Murphy M.P., Partridge L. Toward a control theory analysis of aging//Annu Rev Biochem. 2008; Vol.77. P.777-798.
61. Nicolis J.S., Tsuda I. Chaotic dynamics of information processing: the "magic number seven plus-minus two" revisited//Bull. Math. Biol. 1985. Vol.47. P.343-365.
62. Nicolis J.S. Dynamics of hierarchical systems. An evolutionary approach. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-N.Y.-Tokyo.1986. 440 p.
63. Oliveira B.F., Nogueira-Machado J.A., Chaves M.M. The role of oxidative stress in the aging process//Scientific World Journal. 2010. Vol.10. P.1121-1128.

64. Olovnikov A.M. Lunasensor, infradian rhythms, telomeres, and the chromomere program of aging//Ann N Y Acad Sci. 2005. Vol.1057. P.112-132.
65. Pawelec G., Barnett Y., Forsey R., Frasca D. etc. T cells and aging//Front Biosci. 2002. Vol.7. P.1056-1183.
66. Pérez V.I., Bokov A., Van Remmen H., etc.//Is the oxidative stress theory of aging dead?//Biochim Biophys Acta. 2009. Vol.1790. P.1005-1014. Review.
67. Rando T.A., Chang H.Y. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock//Cell. 2012. Vol.148. P. 46-57.
68. Ristow M., Schmeisser S. Extending life span by increasing oxidative stress//Free Radic Biol Med. 2011. Vol.51. P.327-336.
69. Ruzankina Y., Brown E.J. Relationships between stem cell exhaustion, tumour suppression and ageing//Br J Cancer. 2007. Vol.97. P.1189-1193.
70. Salmon A.B., Richardson A., Pérez V.I. Update on the oxidative stress theory of aging: does oxidative stress play a role in aging or healthy aging?//Free Radic Biol Med. 2010. Vol.48/ P.642-655.
71. Scott W., Bolld R., Deukla W.D. Age-related changes in immune function of rats and the effect of long-term hypophysectomy//Mech. Age. Dev. 1979. Vol.11. P.127-130.
72. Sohal R.S., Orr W.C. The redox stress hypothesis of aging. Free Radic Biol Med. 2012. Vol.52. P.539-555.
73. Stauffer D. The penna model of biological aging//Bioinform Biol Insights. 2009. Vol.24. P.91-100.
74. Strick-Marchand H., Masse G.X., Weiss M.C., Di Santo J.P. Lymphocytes support oval cell-dependent liver regeneration//J. Immunol. 2008. Vol.181. P.2764-2771.
75. Turing A. The chemical basis of morphogenesis//Phil. Trans. Roy. Soc. 1952. Vol.237. P.32-72.
76. van Leeuwen I.M., Vera J., Wolkenhauer O. Dynamic energy budget approaches for modelling organismal ageing//Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2010. Vol.365. P.3443-3454.
77. Walker R.F. Developmental theory of aging revisited: focus on causal and mechanistic links between development and senescence//Rejuvenation Res. 2011. Vol.14. P.429-436.

НОВЫЙ МЕТОД СРАВНИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКИ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СМЕРТНОСТИ

В.Н. Крутько, Т.М. Смирнова

В целях повышения информативности базовых индексов человеческого развития разработан метод ранговых индексов, позволяющий дополнить абсолютные значения индексов информацией о структуре первичных измеряемых показателей, на основе которых вычисляются интегральные индексы. Показано, что применение этого метода для анализа межстрановых различий продолжительности жизни (ПЖ) с учетом возрастной структуры смертности позволило выявить значимые характеристики конкурентоспособности стран мира, связанные как с особенностями старения населения, так и с влиянием социально-экономических процессов на ПЖ.

ВВЕДЕНИЕ

Методы расчета индекса человеческого развития (ИЧР), используемого ООН для мониторинга развития стран мира уже более 20 лет, постоянно подвергаются модификации в соответствии с изменениями представлений о целях развития и о факторах, обеспечивающих и ограничивающих развитие [3]. Необходимость совершенствования методов интегральной оценки человеческого потенциала и отдельных ее базовых компонент обусловлена как сложностью структуры базовых оценок, каждая из которых представляет собой свертку разнородных показателей, так и множественностью их роли в процессах управления развитием. В процессе управления развитием на национальном или региональном уровне параметры человеческого потенциала могут выступать в качестве как самостоятельных целей развития, так и в качестве подцелей, достижение которых обуславливает желаемые уровни достижений в экономической, технологической, экологической и иных сферах, а также в качестве показателей эффективности управления развитием по параметрам, прямо не связанным с состоянием человеческого потенциала, или ограничений на стратегии развития.

В целях повышения информативности базовых индексов человеческого развития нами разработан метод ранговых индексов,

позволяющий дополнить абсолютные значения индексов представленной в удобном для сравнительного анализа виде информацией о первичных измеряемых показателях, функцией которых являются индексы. Рассмотрим применение этого метода на примере одного из базовых индексов ИЧР – индекса долголетия, который считается наиболее эффективной интегральной оценкой достигнутого качества жизни населения. Этот индекс представляет собой монотонно возрастающую (от 0 до 1) функцию от величины ожидаемой продолжительности жизни (ОПЖ) при рождении. ОПЖ для каждой страны рассчитывается на основании набора возрастных коэффициентов смертности (ВКС) в отдельных возрастных группах для всего населения (без разбиения по полу).

Поскольку для любого населения смертность мужчин и женщин в любом возрасте, за редким исключением, неодинакова, индекс долголетия (в отличие от ОПЖ для каждого пола) не является показателем, зависящим только от рисков смерти, но не от структуры населения, т.к. неявным образом он зависит от соотношения полов. При необходимости сравнивать разные страны или одну и ту же страну в разные моменты времени только по показателю ОПЖ невозможно определить, в какой степени наблюдаемые различия ОПЖ характерны для населения в целом, или же они ограничены лишь определенными возрастными интервалами, а возможно, и имеют противоположную направленность в разных возрастных группах. Между тем, для определения целей, разработки стратегий развития и оценки эффективности национальной системы здравоохранения, а также для оценки расходов на социальную политику часто бывает крайне важна информация о качестве жизни не только населения в целом, но и отдельных его возрастных групп. Прежде всего, это касается населения в трудоспособном возрасте, моложе и старше трудоспособного, т.к. снижение смертности в этих группах достигается принципиально разными медико-социальными мерами.

Ограниченная информативность показателя ОПЖ хорошо видна на следующем примере. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2008 г. ОПЖ мужского населения Венгрии,

Ирана, Бразилии и Вьетнама составляла одинаковую величину - 69,8 лет [4]. Однако возрастная структура смертности в этих странах различалась очень сильно. На рисунке 1 представлены значения ВКС для Ирана, Бразилии и Вьетнама, рассчитанные в процентном отношении к уровням ВКС Венгрии для возрастных групп, представленных в таблицах смертности для стран-членов ВОЗ. Такой способ графического представления данных связан с неудобством изображения непосредственно исходных показателей ВКС, поскольку минимальные и максимальные значения ВКС для разных возрастных групп одного и того же населения различаются на два, а иногда и на три порядка.

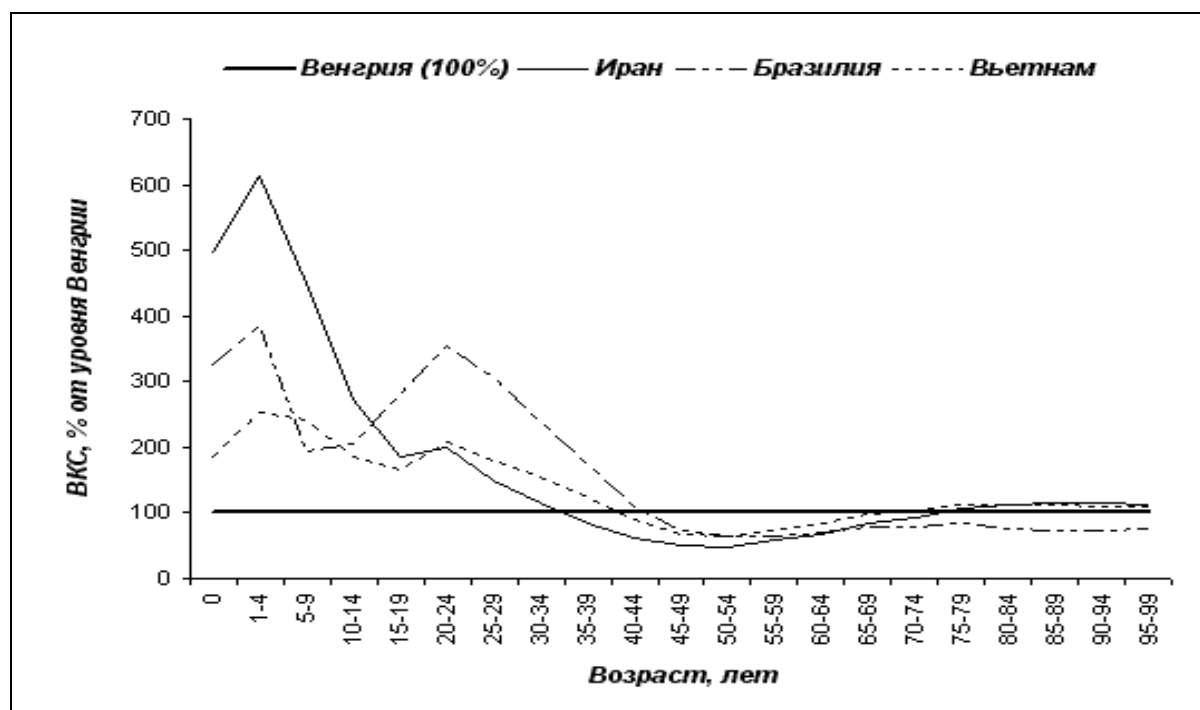


Рисунок 1. ВКС мужского населения Ирана, Бразилии и Вьетнама по сравнению с Венгрией (2008 г., данные ВОЗ).

Как видно из приведенных графиков, для мужчин моложе 35 лет смертность в Венгрии была существенно ниже, чем в трех остальных странах. Для средней и старшей части трудоспособного населения (35-65 лет) минимальные уровни смертности имели место в Иране, где максимальной (для данной группы стран) была детская смертность, а также смертность в возрасте старше 80 лет. Такая

ситуация соответствует минимальному росту демографической нагрузки

Для Бразилии был характерен минимальный уровень смертности в пожилом возрасте, что соответствует наиболее резко выраженной тенденции к постарению населения, которой способствует также и самая высокая в этой группе стран смертность молодых мужчин. Таким образом, социально-экономические перспективы для населения с равными значениями ОПЖ могут существенно различаться именно за счет неодинаковой возрастной структуры смертности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для вычисления ранговых индексов возрастной смертности были использованы данные из Центральной базы статистических данных Росстата [1] и Базы данных ВОЗ [4].

В применении к межстрановым сравнениям по ОПЖ метод ранговых индексов сводится к преобразованию исходных значений ВКС для группы исследуемых стран. Дополнительные показатели - ранговые индексы возрастной смертности (РИВС) – рассчитываются отдельно для мужчин и женщин и для каждой возрастной группы. Значения РИВС для каждой страны из рассматриваемой группы стран определяются для каждой половозрастной группы и представляют собой линейное преобразование ранга этой страны по ВКС для соответствующего возраста и пола (таким образом, что минимальному значению ВКС в группе стран соответствует $РИВС=1$, а максимальному – $РИВС=0$). Во всех наших расчетах ранги ВКС определяли для 193 стран – членов ВОЗ на основе данных таблиц смертности за разные годы из упомянутой выше базы данных ВОЗ.

Переход от ВКС к РИВС сохраняет отношение порядка: в любом из рассматриваемых возрастных интервалов. РИВС для одной страны больше, чем для другой, в том и только в том случае, если для первой страны смертность в данном возрастном интервале ниже, чем во второй. Уравнивание масштаба РИВС создает важное преимущество наглядности при сравнительном анализе смертности, поскольку позволяет отображать на одном графике значения РИВС для всех

возрастных групп. Переход к ранговым показателям смертности особенно удобен в случае, когда требуется оценить конкурентоспособность различных стран по уровню жизнеспособности населения с учетом возрастной динамики риска смерти.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительные показатели смертности в четырех странах, приведенные на рисунке 1, при пересчете ВКС в РИВС не только дают значительно более четкую картину различий между этими странами (рисунок 2), но и позволяют оценить достижения этих стран на общемировом уровне. Начиная с 2010 г., ООН использует для классификации стран мира по уровню человеческого развития следующие градации: низкий, средний высокий и очень высокий уровень, причем границами уровней служат не конкретные значения ИЧР, как это было принято раньше, а квартили ИЧР. Число стран, отнесенных к каждому уровню, таким образом, одинаково (или различается для разных уровней не более, чем на 1). Применяя подобный подход к показателям смертности, на графиках РИВС легко можно определить уровни, достигнутые каждой страной для каждой половозрастной группы. Очень высокий уровень жизнеспособности мужчин характерен только для младшей (до 35 лет) части населения Венгрии и старшей (от 80 лет) части населения Бразилии. В обеих этих странах для части мужского населения смертность выше медианного мирового уровня: в Бразилии это подростки и молодежь, а в Венгрии – старшая часть населения в трудоспособном возрасте. Такие различия могут свидетельствовать о выраженном различии социально-экономической ситуации в этих странах. Если в Бразилии наихудшие показатели смертности приходится на возраст социализации, то в Венгрии - на возраст выхода на пенсию ± 10 лет (до 2008 г. пенсионный возраст в Венгрии составлял 60 лет для мужчин и 55 – для женщин). Аналогичная картина, хотя и с менее выраженным падением РИВС в области пенсионного возраста, характерна и для венгерских женщин.

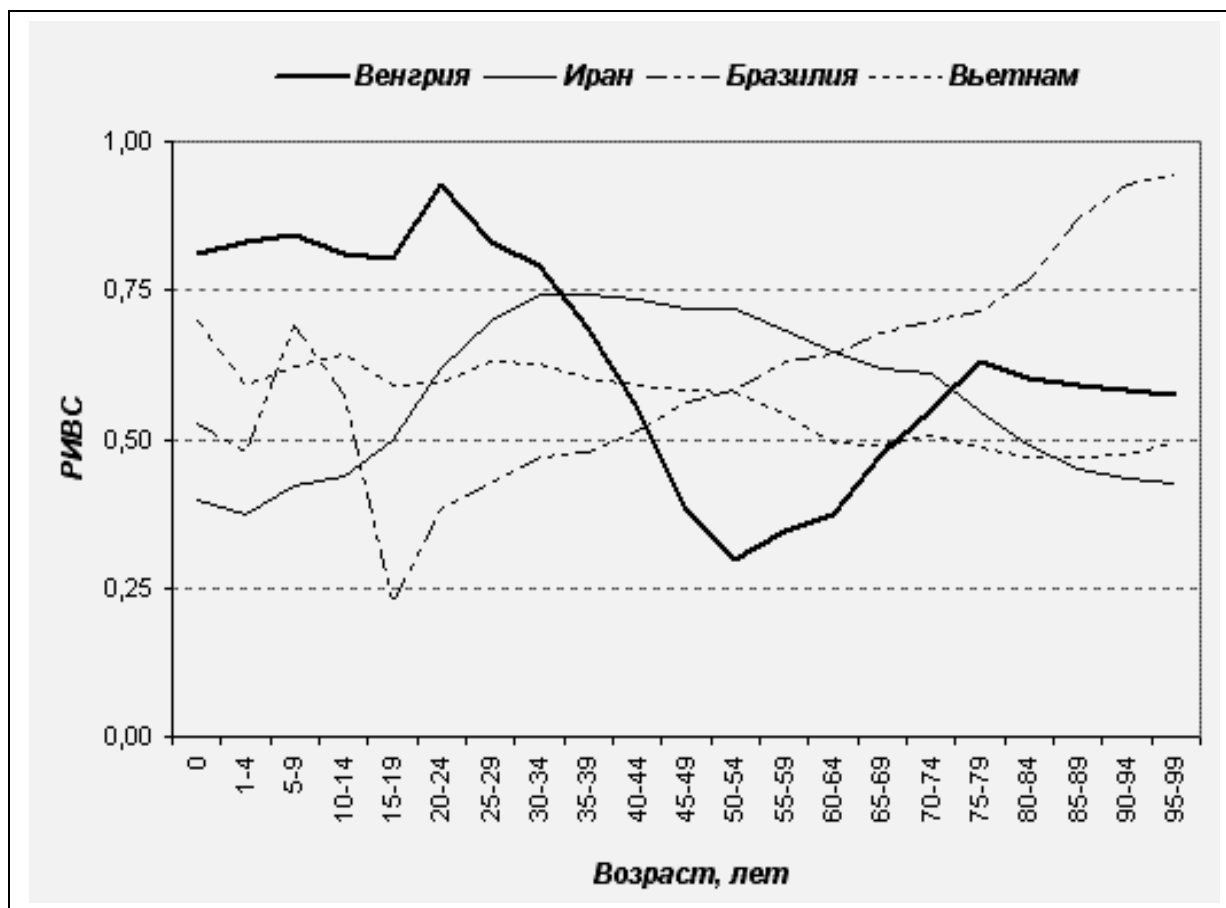


Рисунок 2. РИВС мужского населения Венгрии, Ирана, Бразилии и Вьетнама, 2008 г.

РИВС мужского населения Вьетнама практически полностью находятся в третьем квартиле, соответствующем высокому уровню жизнеспособности. Еще более выгодная ситуация с точки зрения трудового потенциала населения характерна для Ирана, где уровень жизнеспособности именно трудоспособного мужского населения приближается к очень высокому.

Рисунок 3 иллюстрирует возможности использования метода ранговых индексов для анализа динамики смертности в отдельных возрастных группах. На графике отображен один из немногих демографических показателей, динамика которого в России, по данным Росстата [1], в последние 20 лет была позитивной – младенческая смертность.

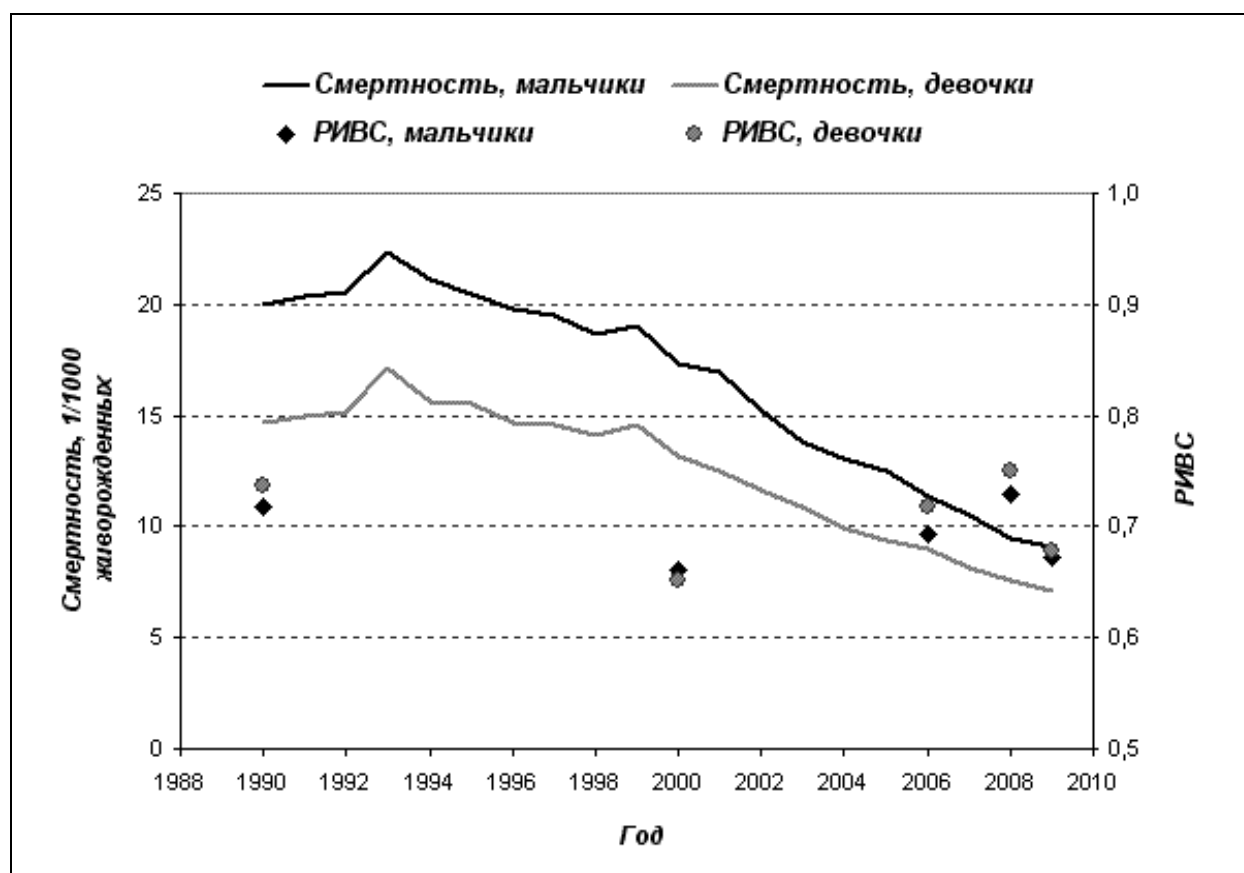


Рисунок 3. Динамика смертности и РИВС российских детей в возрасте до 1 года.

Снижение смертности детей первого года жизни более чем в 2 раза за 20 лет не привело к значительному изменению мирового статуса России по этому показателю. В 2009 г. рейтинг России понизился, несмотря на то, что младенческая смертность продолжала снижаться, за счет того, что несколько стран в том же году улучшили этот показатель на бóльшую величину.

На рисунках 4-14 приведены результаты использования метода ранговых индексов для анализа динамики смертности в ряде стран мира в период 1990-2009 гг.

Как показывает рисунок 4, Россия по уровню смертности в мужчин трудоспособном возрасте уже в 1990 г. находилась в худшей половине стран мира, и с тех пор ситуация только усугубилась. В настоящее время для возрастного диапазона 25-79 лет Россия входит в худшую четверть стран.

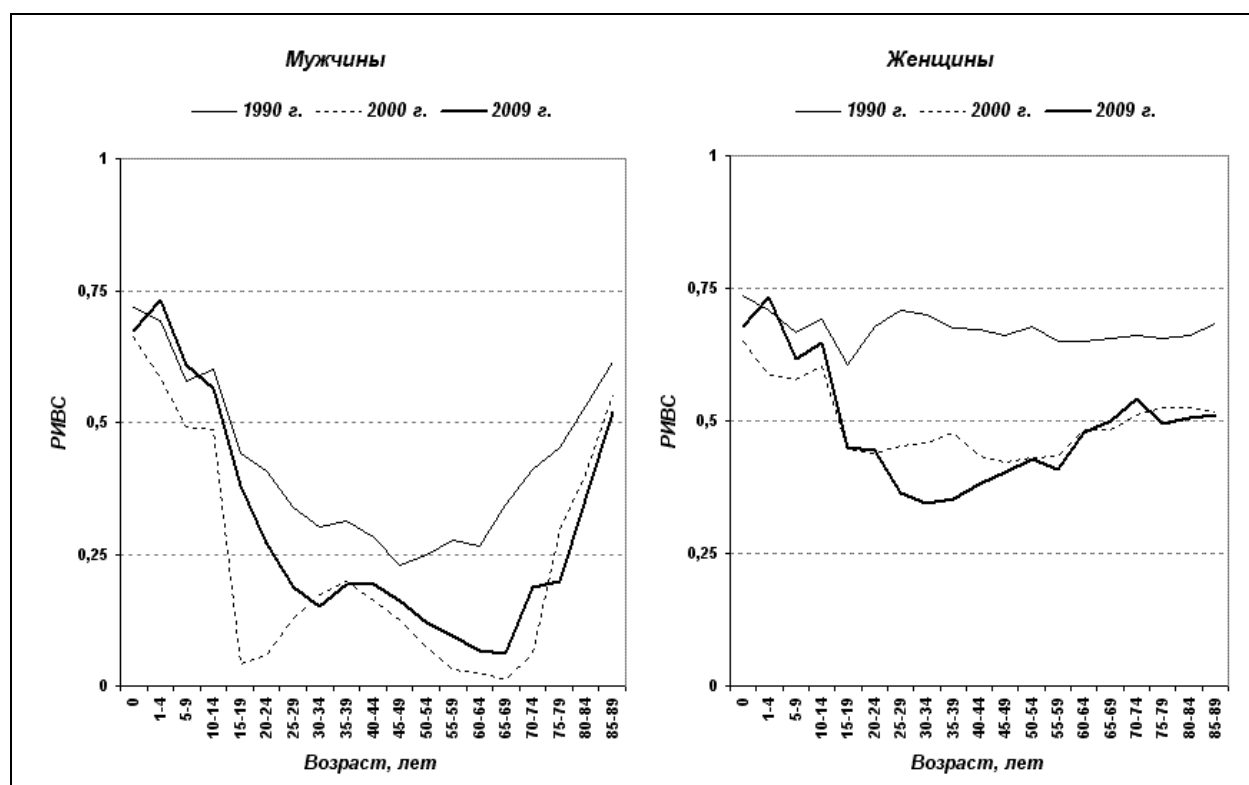


Рисунок 4. Динамика РИВС населения России.

У женщин также сформировалась устойчивая тенденция к росту, по сравнению с другими странами, риска смерти для всех возрастов, причем в наибольшей степени – для трудоспособных. Если в 1990 г. жизнеспособность женщин всех возрастов находилась на высоком уровне, то в настоящее время ниже этого уровня находится возрастной диапазон от 15 до 64 лет. Наиболее тревожно прогрессирующее снижение РИВС женщин в возрасте 25-44 лет, на который приходится бóльшая часть рождений детей и их воспитание.

Еще более выраженное, чем в России, снижение ОПЖ в этот период имело место на Украине (на 3,2 года у мужчин и 0,9 года у женщин против, соответственно, 1,9 и 0,1 года для России). Наиболее глубоким так же было снижение РИВС для трудоспособных возрастов (рисунок 5). Если в 1990 г. РИВС украинских мужчин и женщин были выше, чем российских, для всех возрастов, начиная с 5 лет, то в 2009 г. смертность в России была ниже для мужчин в диапазоне 35-54 лет, а для женщин – в диапазоне 30-49 лет

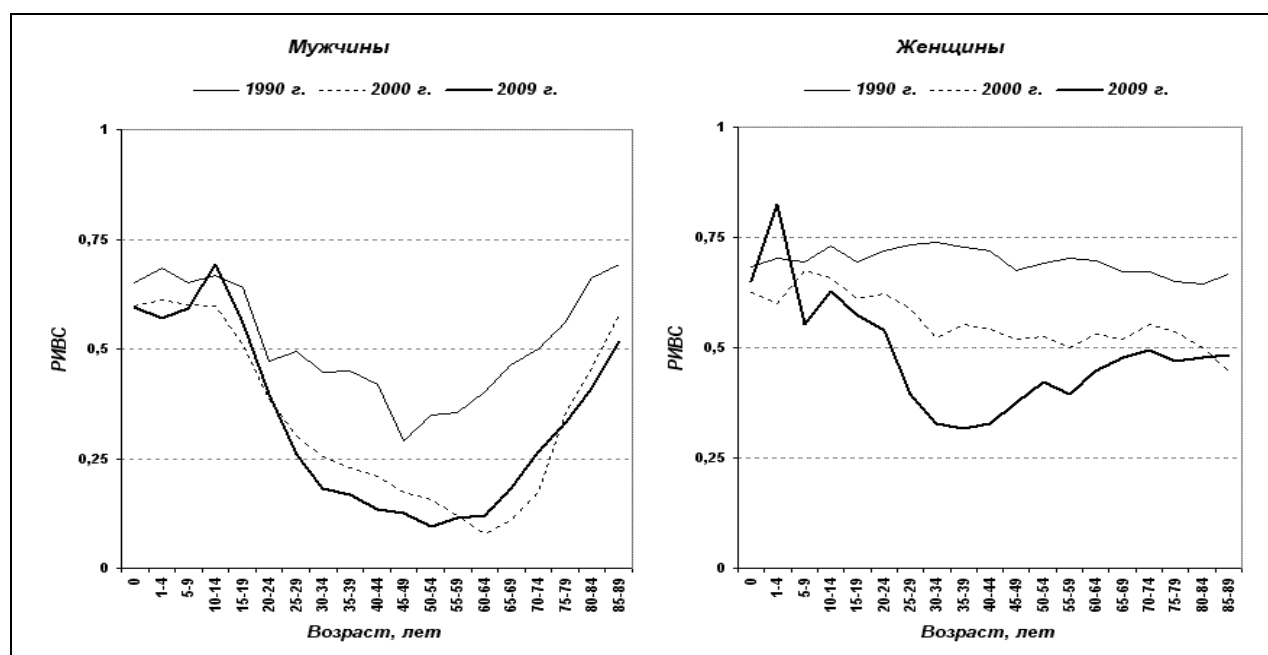


Рисунок 5. Динамика РИВС населения Украины.

Сходная с российской и украинской динамика РИВС наблюдалась во многих странах с переходной экономикой. Для ряда стран: Сербии (рисунок 6), Македонии, Болгарии – так же, как для России, было характерно снижение конкурентоспособности по жизнеспособности молодежи и старшей части трудоспособного населения. Однако это снижение было менее резким, чем в России, и ОПЖ в этих странах в целом увеличилась с 1990 по 2009 г. на 1-2 года.

В странах Восточной Европы, наиболее благополучно переживших социально-экономическую трансформацию, - Чехии (рисунок 7), Венгрии, Польше, Эстонии, – ОПЖ за тот же период выросла на 4-6 лет. Рост ОПЖ был обеспечен снижением ВКС во всех возрастных группах и сопровождался ростом РИВС для всех или почти всех возрастов. Такой вариант динамики РИВС соответствует как абсолютному, так и относительному повышению качества жизни для всех возрастных групп населения. Наиболее выраженный рост РИВС в данной группе стран имел место для пожилых. Это создает условия для ускоренного, по сравнению со средним для современного мира темпом, постарения населения.

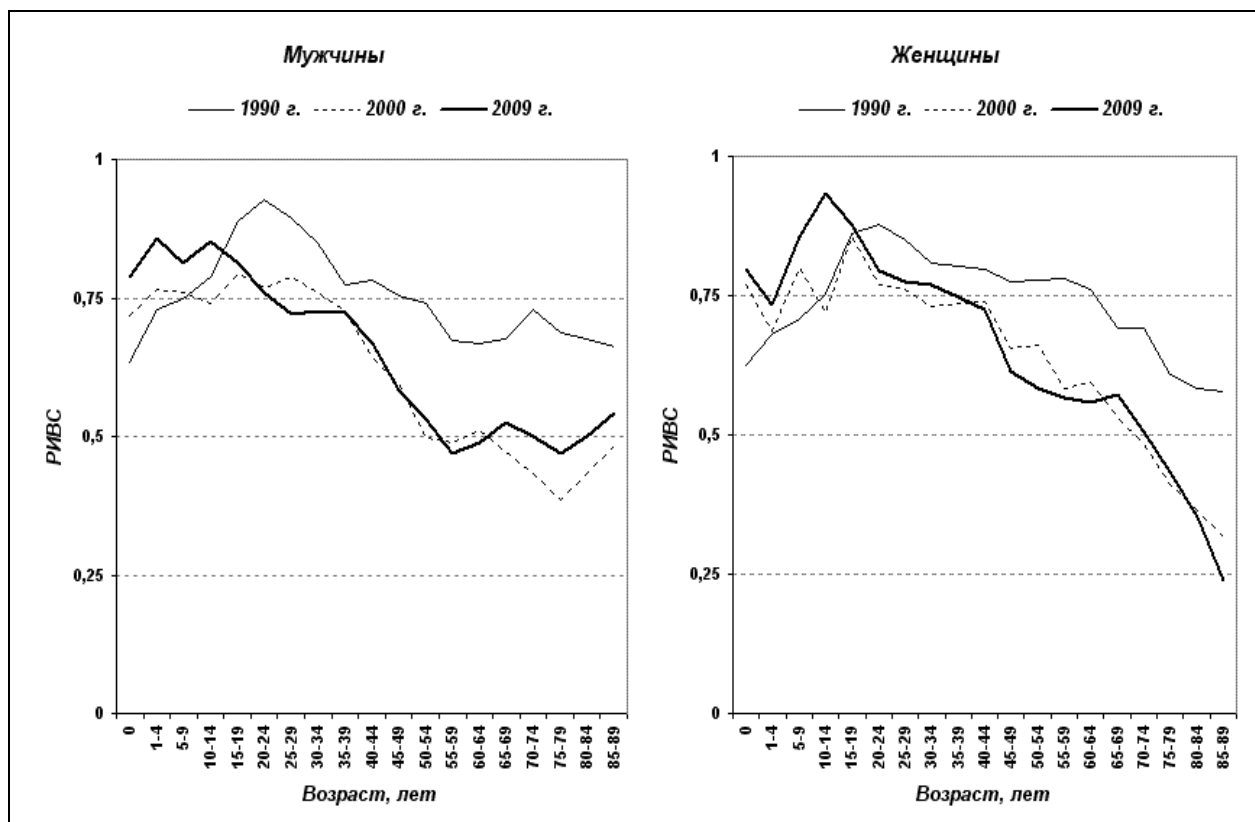


Рисунок 6. Динамика РИВС населения Сербии.

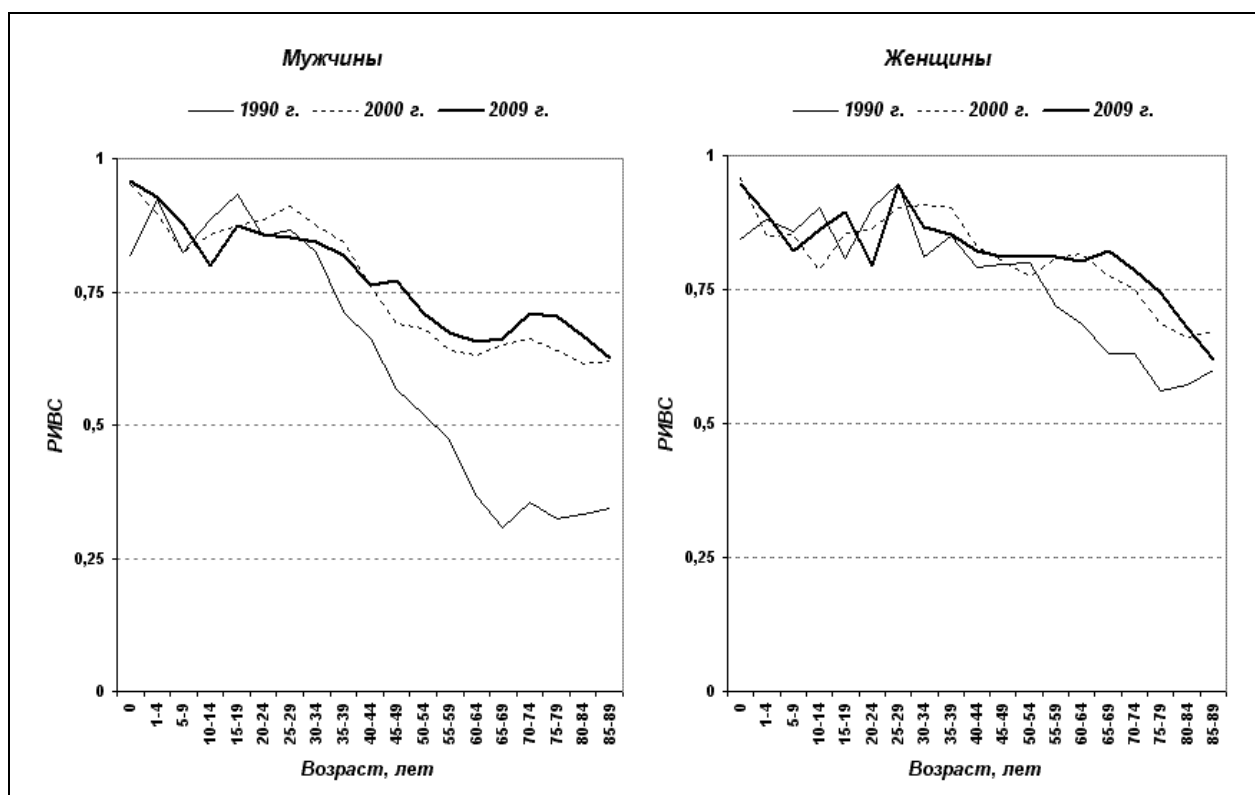


Рисунок 7. Динамика РИВС населения Чехии.

Большинство высокоразвитых стран в период 1990-2009 гг. устойчиво сохраняло очень высокий статус по показателям смертности для всех или почти всех половозрастных групп. Современные тенденции динамики ВКС в странах «большой семерки» (Япония, Канада, США, Германия, Италия, Франция, Великобритания), а также в Дании таковы, что, в случае их сохранения, более половины жителей этих стран, родившихся в XXI веке, доживет до 100 лет [2]. Однако возрастная структура смертности в этих странах неодинакова. На рисунках 8-9 приведена динамика РИВС в наиболее контрастных странах этой группы – Германии и США. В США наиболее высокие показатели РИВС соответствуют самым старшим возрастным группам, что отражает выраженное постарение населения, которое в этой стране в значительной степени компенсируется за счет активной иммиграционной политики. Значения ОПЖ в США – самые низкие в данной группе стран, что связано с относительно высокой смертностью молодых. В Германии же рекордные для современного мира или очень близкие к ним – уровни ВКС достигнуты в возрастном диапазоне 10-40 лет, и дальнейшее снижение смертности может быть достигнуто главным образом за счет снижения смертности пожилых, что неизбежно будет сопровождаться ростом их доли в населении.

Для всех высокоразвитых стран было характерно снижение РИВС для детей до года, несмотря на то, что в абсолютном выражении младенческая смертность во всех этих странах снижалась. Снижение РИВС для данной возрастной группы связано с ростом числа стран, которые по уровню младенческой смертности достигли лучших показателей по сравнению с наиболее развитыми странами.

Принципиальной иной тип динамики РИВС наблюдался в ряде интенсивно развивающихся стран, в особенности в Китае и Иране (рисунки 10-11), где наилучшие показатели жизнеспособности населения отмечались для трудоспособных возрастных групп. Сходный тип динамики РИВС характерен также для Турции и Пакистана. Китай относится к высокоразвитым странам для всех возрастов по показателям мужской смертности и почти для всех возрастов – по уровню смертности женщин.

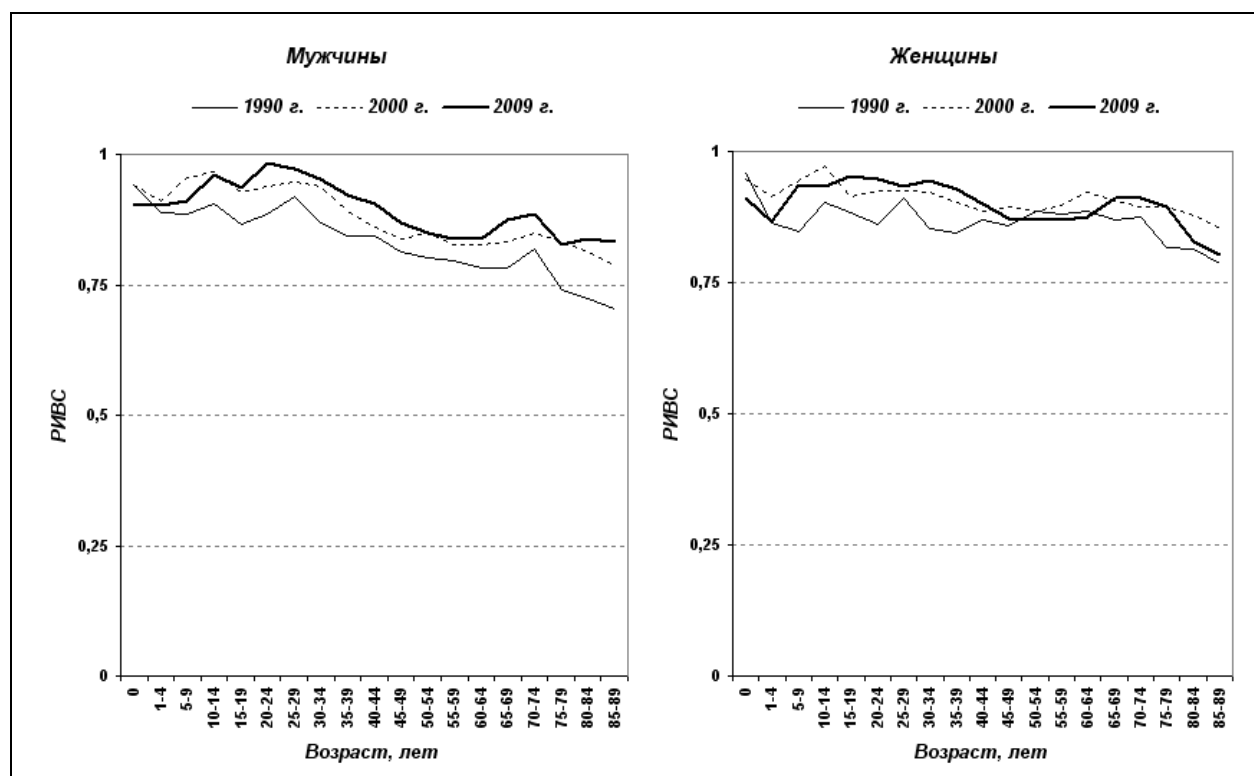


Рисунок 8. Динамика РИВС населения Германии.

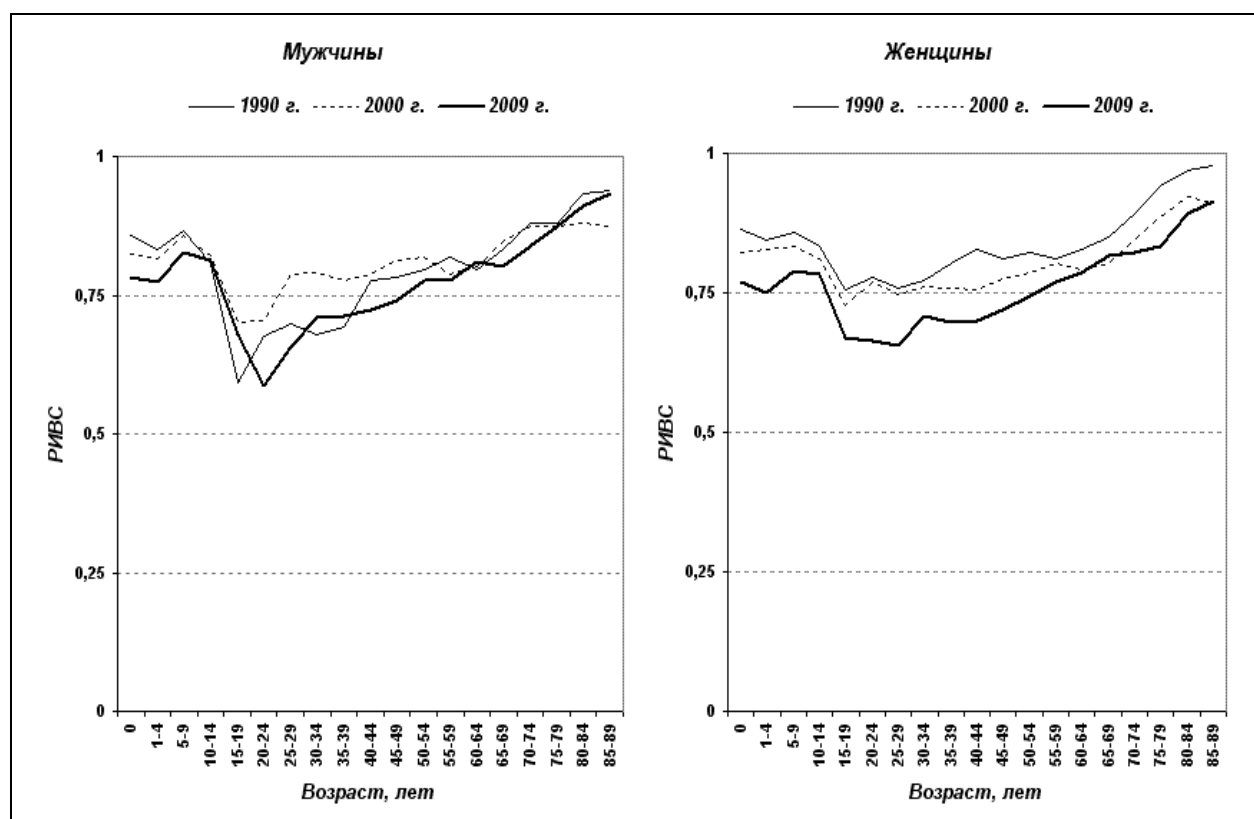


Рисунок 9. Динамика РИВС населения США.

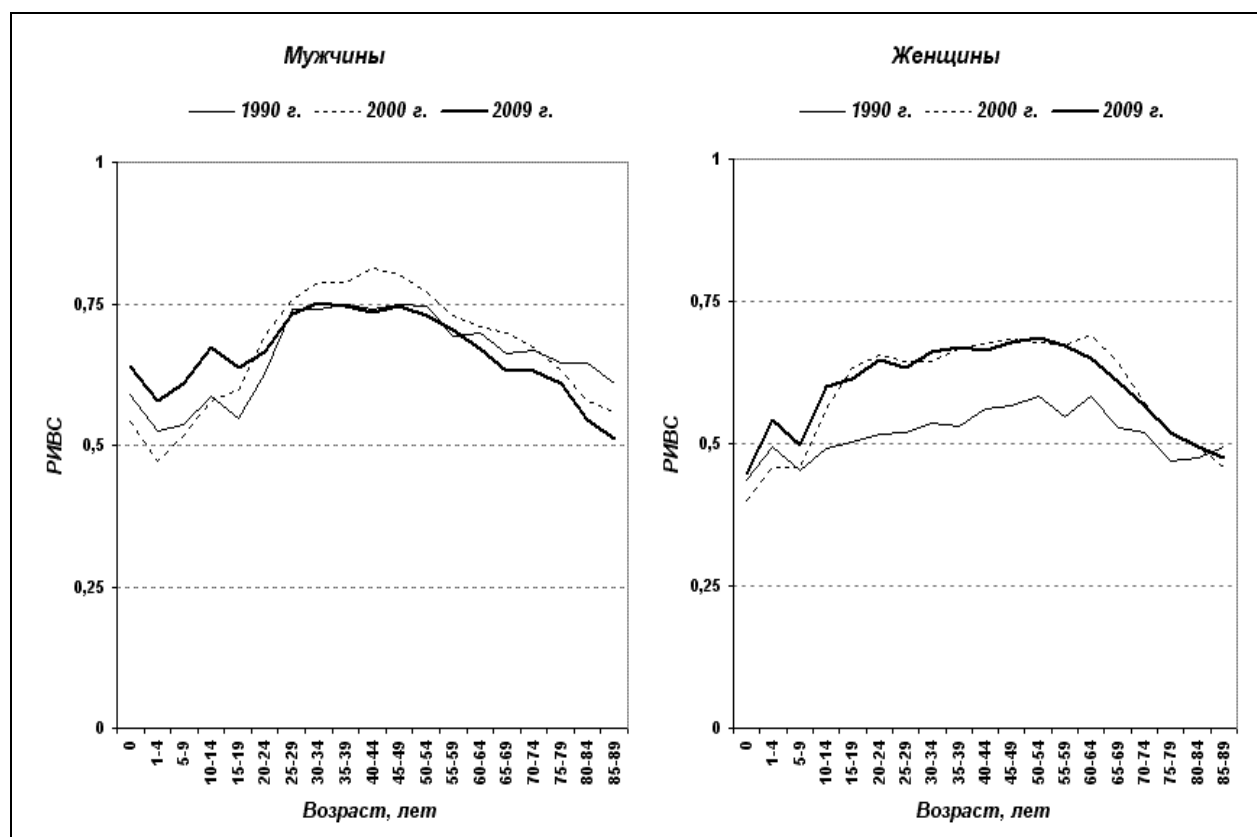


Рисунок 10. Динамика РИВС населения Китая.

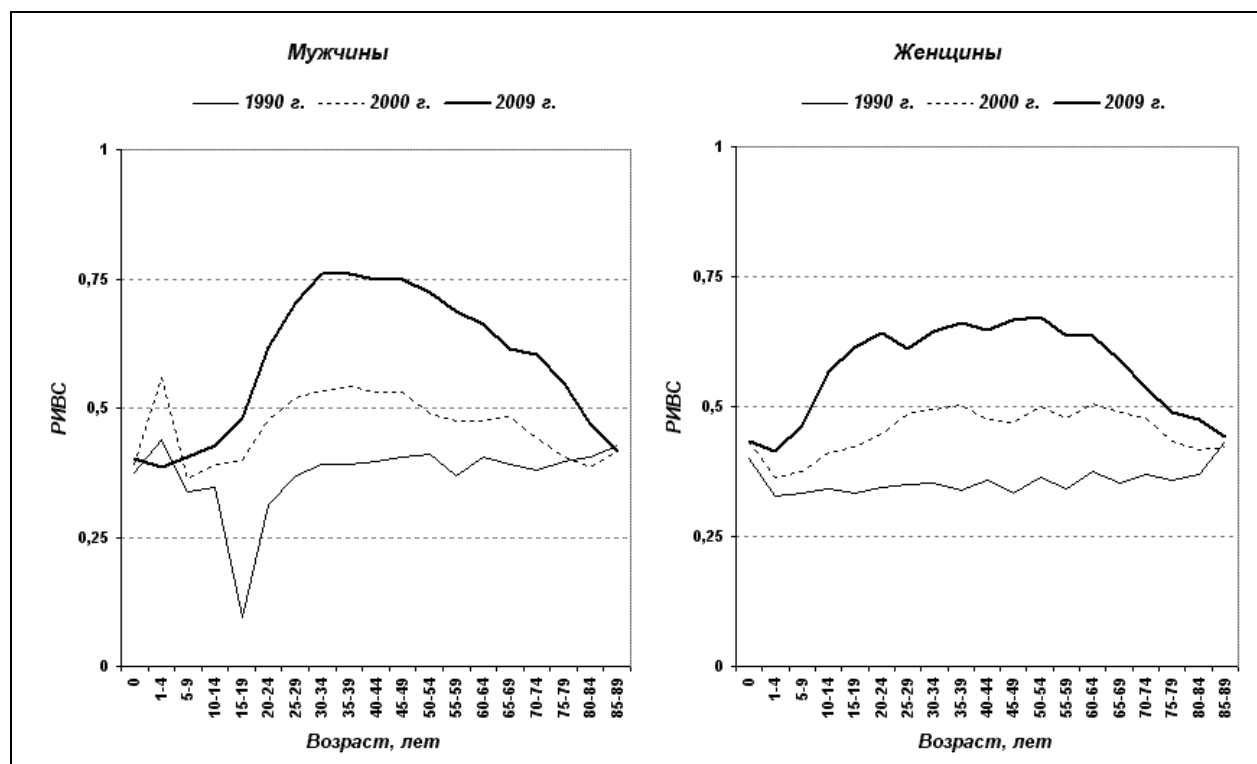


Рисунок 11. Динамика РИВС населения Ирана.

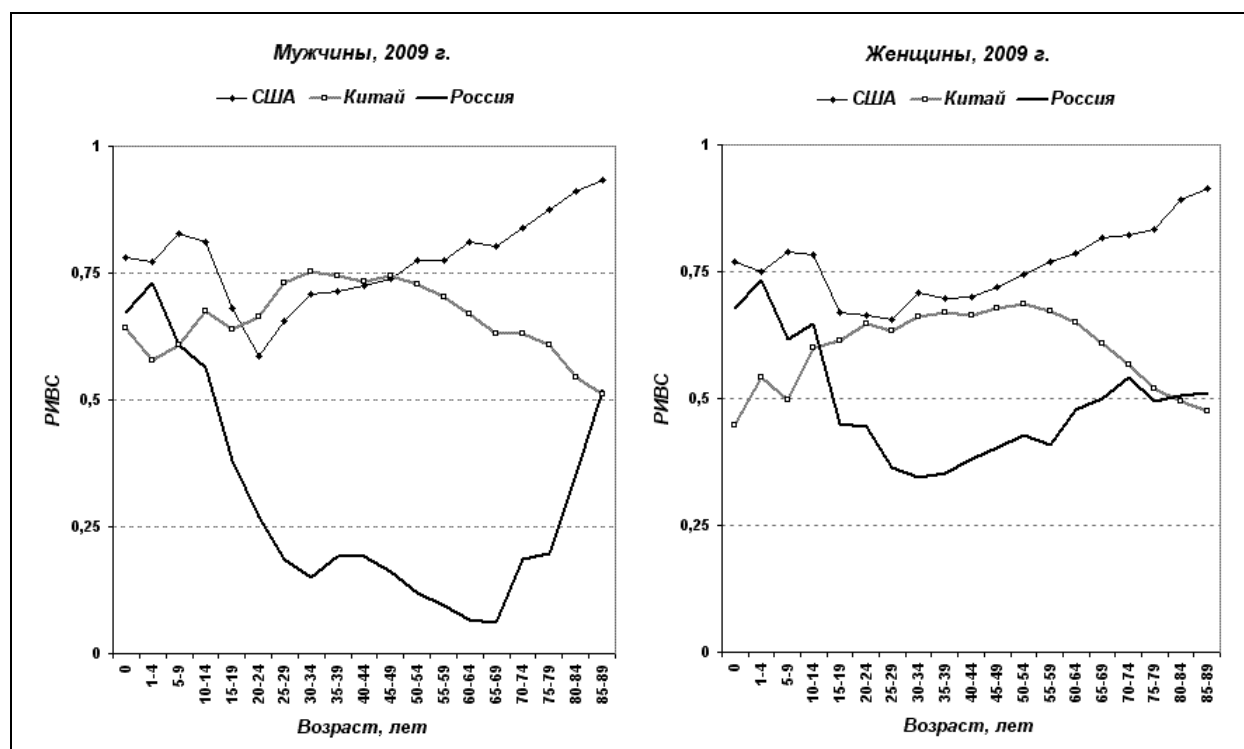


Рисунок 12. Сравнительная динамика РИВС населения США, Китая и России.

В диапазоне 20-49 лет мужская смертность в Китае ниже, чем США. По сравнению с Россией, смертность в Китае значительно ниже для мужчин в возрастном диапазоне от 15 до 84 лет, а для женщин – от 15 до 64 лет (рисунок 12). Высокая, по сравнению с наиболее развитыми странами, смертность в пожилом возрасте, создает интенсивно развивающимся странам преимущество более низкой демографической нагрузки. Относительно высокая смертность в детском возрасте также имеет свою положительную сторону: за счет действия естественного отбора, не компенсируемого средствами медицины, снижается бремя болезней во взрослом возрасте.

В странах с наиболее низкой продолжительностью жизни отмечены разнообразные варианты динамики смертности. На рисунках 13-14 представлены примеры стран с медленным, но достаточно устойчивым ростом ОПЖ (Нигерия) и с резким ростом смертности по всем возрастным группам, характерным для стран, затронутых эпидемией СПИД (ЮАР).

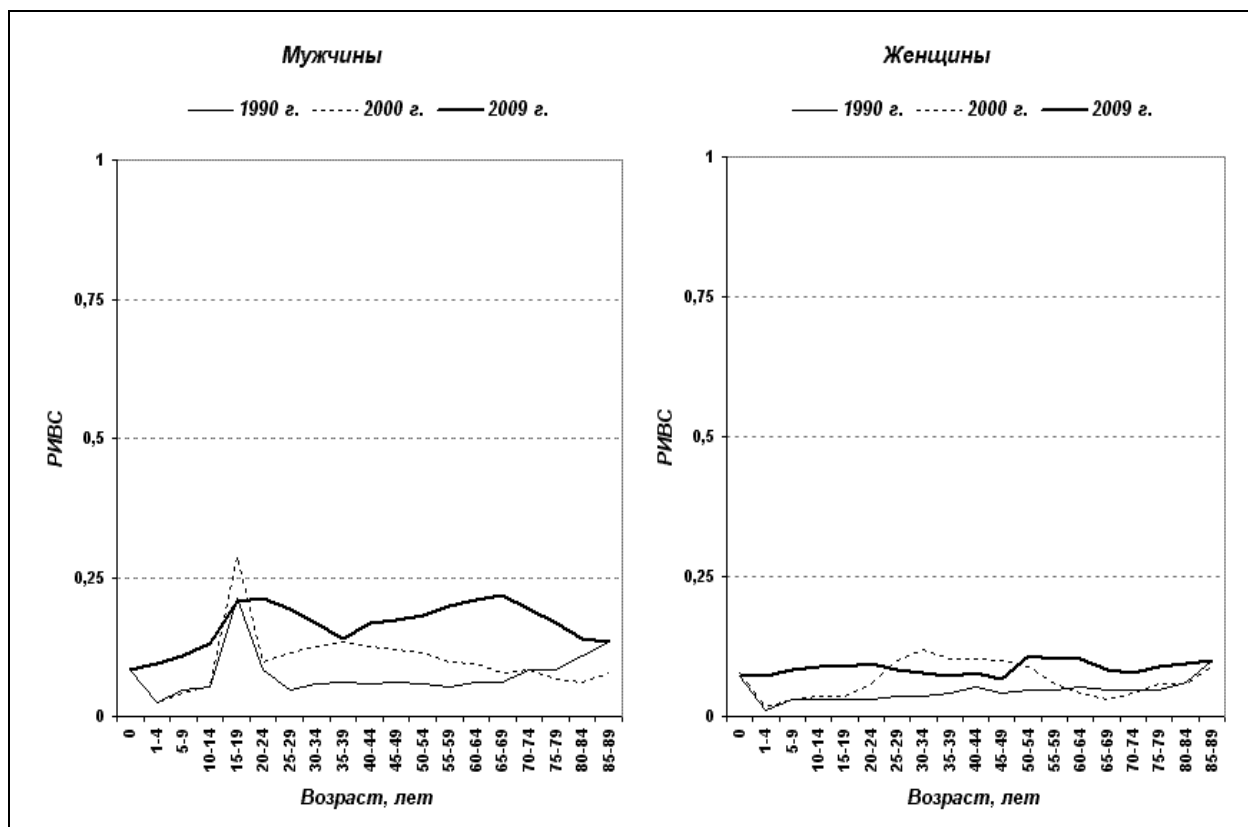


Рисунок 13. Динамика РИВС населения Нигерии.

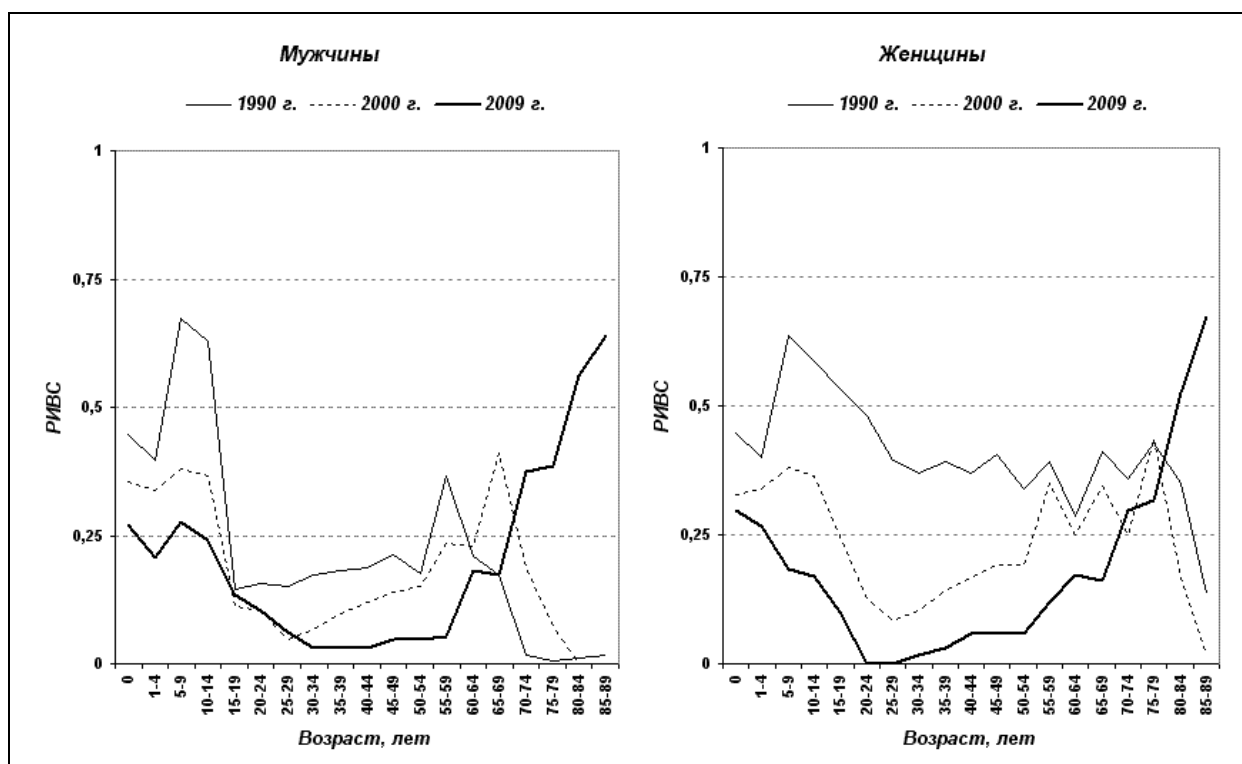


Рисунок 14. Динамика РИВС населения ЮАР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные результаты показывают, что использование ранговых индексов для компонент интегрального показателя человеческого развития позволяет выявить ряд значимых особенностей исследуемого процесса, которые не могут быть обнаружены, если принимать во внимание только сам интегральный показатель. Метод ранговых индексов может быть применен не только к индексу долголетия, но и к другим базовым индексам человеческого развития – индексам образования и богатства – в целях анализа структурных особенностей их динамики. В отличие от индекса долголетия, для которого за время его использования набор исходных данных для его расчета (значения ВКС) оставался постоянным, структура индекса образования многократно изменялась. В качестве исходных показателей для его вычисления в разные годы использовали: долю грамотных во взрослом населении (считая от 25 или же от 15 лет), долю грамотных и долю учащихся в населении, среднюю продолжительность обучения и среднюю ожидаемую продолжительность обучения [3]. Ранговые индексы для стран мира можно вычислять по каждому из этих показателей, а также для любых других характеристик образования населения, по которым ведется мониторинг. Анализируя, в том числе и с помощью графиков, динамику развития стран по комплексу ранговых индексов, можно определить, какие из индексов наиболее ярко дифференцируют различные варианты развития, и таким образом сравнивать информативность индексов и выбирать оптимальную структуру интегрального показателя образовательного уровня населения. Ранговые индексы можно вычислять не только для показателей, измеряемых в количественных шкалах, но и для порядковых показателей.

Ранговые индексы удобно использовать при определении целей повышения конкурентоспособности страны. Однако для проектирования стратегий реализации целей и мониторинга реализации этих стратегий необходимо использовать не ранговые показатели, а абсолютные значения измеряемых параметров развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Центральная база статистических данных Росстата. <http://www.gks.ru/dbscripts/Cbsd/DBInet.cgi>
2. Christensen, K.; Doblhammer, G.; Rau, R.; Vaupel, J. W.: Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet* 374(2009)9696:1196-1208.
3. Klugman J., Rodríguez, F, and Choi, H.-J. The HDI 2010: New Controversies, Old Critiques. Human Development Research Paper 2011/01. April 2011. http://hdr.undp.org/en/reports/global/hdr2011/papers/HDRP_2011_01.pdf
4. WHO Global Health Observatory. Life Tables. <http://apps.who.int/ghodata/>

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ НАКОПЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ В ДНК И ЗАКОНОМЕРНОСТИ СМЕРТНОСТИ ЛЮДЕЙ

А.М. Германский

Предложено математическое описание модели старения биологического организма как результата накопления дефектов в ДНК по механизму разветвленной цепной химической реакции. Отказ от ряда допущений, имевших место в прежней редакции математического описания модели, сделал вывод основного уравнения более строгим и лаконичным. Новая модель увязывает между собой возрастную зависимость Гомперца смертности людей и известные ранее закономерности взаимосвязи ее параметров: корреляции Стрелера-Милдвана и Кременцовой-Конрадова. Обработка статистических данных смертности в Дании за период 1937/2007 г.г. показала, что имеет место (в терминах модели) резкое, более чем в 4 раза снижение количества наследуемых при рождении *S*-дефектов. Снижение может быть обусловлено устойчивым уменьшительным трендом концентрации радиоуглерода – ^{14}C в атмосфере. С позиции радиоуглеродного механизма старения, после 2010 года в индустриально и социально развитых странах, где общая смертность наиболее близка к естественной, следует ожидать период ее подъема и, далее, последующий спад. Координаты максимума естественной смертности населения той или иной возрастной группы на исторической шкале будут соответствовать максимуму концентрации радиоуглерода в биосфере (1966 г) плюс возраст группы.

ВВЕДЕНИЕ

Представление, что старение биологического организма является результатом накопления дефектов, в том числе и поломок ДНК, имеет глубокие исторические корни. Известно положение [1], что экспоненциальный характер кривых смертности определен аутокаталитическим накоплением повреждений. Аналогичный подход использован в работе, связывающей выживаемость с повреждением хромосом [2]. Близкая, по сути, идея заложена в модели Л.А. Гаврилова [3], которая основана на том, что старение обусловлено “каскадом зависимых отказов”, возникающим в результате нарушения в одной из систем организма. Общим признаком во всех этих случаях является цепной механизм разрушения организма, когда индуцированная интенсивность смертности растет с увеличением числа имеющихся дефектов.

В работе [4] предложена гипотеза, что таким первичным индуцирующим фактором является трансмутационные превращения радиоуглерода- ^{14}C , инкорпорированного в ДНК биологического организма. При таком радиоуглеродном механизме старения (РМС) изменений элементного состава на отдельных участках ДНК, обусловленных радиоактивным распадом $^{14}\text{C} \rightarrow ^{14}\text{N}$, оказывается достаточно, чтобы вызвать цепную реакцию нарушений на всей ее нити, подобно случаю развития разветвленной цепной химической реакции [5]. Далее цепной характер развития нарушений проявляется в управлении синтеза белков, и в первую очередь ферментов, поскольку последние контролируют все процессы обмена веществ и энергии. Нарушения на клеточном уровне переходят к нарушениям деятельности отдельных органов и организма в целом. Если представить, что интенсивность отказов жизненно необходимых функций организма лимитируется скоростью потери генетической информации, то вероятность его гибели вследствие такого цепного процесса будет пропорциональна числу дефектов на уровне ДНК.

Любые цепные процессы носят экспоненциальный характер и по этому признаку хорошо объясняют закон Гомперца [6]. Однако в едином ключе объяснить другие известные закономерности естественной смертности людей, такие как корреляции Стрелера-Милдвана [7] и Кременцовой-Конрадова [8], стало возможным только с позиций

РМС [4]. В тоже время, вывод основного уравнения РМС, связывающего смертность от естественных причин с возрастом и концентрацией радиоуглерода в атмосфере, сопровождался рядом допущений, которые в дальнейшей работе желательно исключить. В этом случае появится возможность представить вывод основного уравнения более строгим и лаконичным.

Цель работы – математическое описание цепного характера накопления дефектов ДНК как причины старения биологических организмов и его апробация на основных закономерностях смертности людей.

Методика обработки статистических данных смертности [9]

Параметры общей смертности – R_0 и α_0 уравнения Гомперца определены в результате аппроксимации экспонентой возрастной зависимости смертности от всех причин в старших возрастных группах с помощью программы *Microsoft Excel.Ink*. Полученные значения R_0 и α_0 позволяют вычислить параметры смертности населения от естественных причин с помощью уравнений, полученных ранее по результатам анализа общей смертности и известной случайной составляющей для 25 стран. Например, для женского населения параметры естественной смертности вычислены по формулам:

$$R_e = (1 + 0,015) \times R_{0(ж)} \pm 0,07 \times R_{0(ж)}$$

$$\alpha_e = (1 - 0,0005) \times \alpha_{0(ж)} \pm 0,0103 \times \alpha_{0(ж)},$$

где R_e , α_e и – параметры уравнения Гомперца, описывающего возрастную динамику естественной смертности женского населения, соответственно; $R_{0(ж)}$, $\alpha_{0(ж)}$ – параметры уравнения Гомперца, описывающего возрастную динамику общей смертности женского населения (рассчитаны по статистическим данным показателей общей смертности женского населения в возрасте от 60 до 85 лет), соответственно; $(1+0,015)$; $(1-0,0005)$ – коэффициенты, учитывающие смещение средних значений (систематическая погрешность); $0,0103$ – коэффициенты, учитывающие ширину доверительного интервала при доверительной вероятности, равной 0,95 (случайная погрешность).

В качестве исходных данных использована статистика, опубликованная на Human Mortality Database [10], база данных по общей смертности населения Дании (q_0) от 60 до 85 лет с шагом в 1 год.

При корреляционном анализе оценка значимости уравнений линейной регрессии и отдельных коэффициентов этих уравнений дана с помощью F-критерия Фишера [11]. Доверительный интервал для коэффициентов регрессии определен по величине стандартной ошибки и значению t-критерия Стьюдента.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ МОДЕЛИ

1. Вероятность естественной смерти пропорциональна числу специфических дефектов, возникающих на уровне ДНК. Специфика таких дефектов в отличие от любых других повреждений заключается в том, что при их возникновении клетка продолжает устойчиво работать, используя в своей репарационной и ферментативной деятельности гены с искаженной информацией. В рамках модели предложено считать такой режим работы клетки основной причиной изменений в организме в целом, происходящих при старении. В дальнейшем описании модели такие нарушения обозначены как *S*-дефекты (от латинского *senescentia* – старение).

2. *S*-дефекты, возникающие в нитях ДНК, подразделены на первичные и вторичные.

2.1 К категории первичных повреждений отнесены *S*-дефекты, вызванные непосредственно действием того или иного *S*-агента (обозначение по той же логике – от латинского *senescentia*), проникающего в клетку из вне.

2.3 Вторичные повреждения генетического кода являются следствием пролиферации и деятельности клеточной системы репарации, когда при репликации используется поврежденный *S*-дефектами участок нити родительской ДНК, служащей матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи.

3. При кинетическом описании развития такого рода повреждений отдельно представлены скорости возникновения и развития первичных и вторичных *S*-дефектов с учетом скорости их репарации.

Скорость репарации, в свою очередь, зависит от реакции активирования в клетке адаптивного ответа. С целью пояснения последнего положения в качестве примера адаптивного ответа, как такового, можно привести радиационное действие ионизирующего излучения в области малых доз. Согласно концепции гормезиса [12], такое действие в области предела, ограничивающего диапазон малых доз, линейно связано с мощностью хронического облучения.

4 В дальнейшем, при апробации модели, в качестве *S*- агента, генерирующего *S*-дефекты, можно рассматривать различные варианты: это могут быть активные формы кислорода, либо инкорпорированный в структуру ДНК радиоактивный углерод-¹⁴C, либо другое, вытекающее из гипотез, объясняющих причину ослабления жизненных функций с возрастом.

Вывод основного уравнения

Согласно положению 1, естественную смертность - q_e можно выразить формулой:

$$q_e = k \times n \quad (1)$$

где k – константа естественной смертности людей; n – текущее количество *S*-дефектов в структуре ДНК.

В свою очередь, скорость развития повреждений (dn/dt) будет определяться суммой скорости индукции первичных *S*-дефектов и скорости вызванных ими последующих вторичных *S*-дефектов на нити ДНК за вычетом скорости их репарации:

$$dn / dt = v + \varphi \times n - \omega \times n \quad (2)$$

где v – скорость образования первичных *S*-дефектов в результате действия *S*-агента; φ – константа скорости разветвления цепей вторичных повреждений; ω – константа скорости репарации *S*-дефектов.

Скорость образования первичных *S*-дефектов пропорциональна концентрации (c) *S*-агента на границе с ДНК:

$$v = \eta \times c \quad (3)$$

где η - константа скорости образования первичных *S*-дефектов.

Константа скорости репарации S -дефектов, учитывая реакцию адаптивного ответа, представлена следующим образом:

$$\omega = \omega_0 + \varepsilon \times c \quad (4)$$

где ω_0 – скорость репарации S -дефектов при нулевой концентрации S -агента в клетке; ε - коэффициент адаптивного ответа.

Перед интегрированием представим выражение (2) как

$$dn / (v + \varphi \times n - \omega \times n) = dt \quad (5)$$

Таблица неопределенных интегралов позволяет получить следующее выражение первообразной формулы (5):

$$(\varphi - \omega)^{-1} \times \ln(v + \varphi \times n - \omega \times n) = t .$$

Соответственно, после интегрирования выражения (5) при начальных условиях $t = 0$ и $n_{t=0} = n_0$

$$\int_{n_0}^n dn / (v + \varphi \times n - \omega \times n) = \int_0^t dt$$

получаем:

$$(\varphi - \omega)^{-1} \times \ln((v + n \times (\varphi - \omega)) / (v + n_0 \times (\varphi - \omega))) = t \quad (6)$$

Преобразуя выражение (6), получаем последовательно:

$$v + n \times (\varphi - \omega) = (v + n_0 \times (\varphi - \omega)) \times \exp((\varphi - \omega) \times t) ;$$

$$n \times (\varphi - \omega) = (v + n_0 \times (\varphi - \omega)) \times \exp((\varphi - \omega) \times t) - v \quad (7)$$

Учитывая цепной механизм повреждений, принято допущение, что скорость развития общего числа S -дефектов много больше скорости возникновения первичных, т.е. $(v + n_0 \times (\varphi - \omega)) \times \exp((\varphi - \omega) \times t) \gg v$. После этого уравнение (7) принимает следующий вид:

$$n = (v + n_0 \times (\varphi - \omega)) / (\varphi - \omega) \times \exp((\varphi - \omega) \times t) \quad (8)$$

Подставив в формулу (1) выражение (8) и с учетом (3) и (4), получаем основное уравнение зависимости естественной смертности от возраста и от концентрации S -агента:

$$q_e = k \times (\eta \times c + n_0 \times (\varphi - \omega_0 - \varepsilon \times c)) / (\varphi - \omega_0 - \varepsilon \times c) \times \exp((\varphi - \omega_0 - \varepsilon \times c) \times t) \quad (9)$$

АПРОБАЦИЯ МОДЕЛИ

1. Закон Гомперца

Обозначив в уравнении (9)

$$R_e = k \times (\eta \times c + n_0 \times (\varphi - \omega_0 - \varepsilon \times c)) / (\varphi - \omega_0 - \varepsilon \times c) \quad (10), \quad a$$

$$\alpha_e = \varphi - \omega_0 - \varepsilon \times c \quad (11),$$

приходим к известному закону Гомперца, в виде $q_e = R_e \cdot \exp(\alpha_e \cdot t)$, где R_e и α_e эмпирические параметры экспоненты.

2. Корреляция Стрелера-Милдвана

Выразив концентрацию S -агента (c) из уравнения (11)

$$c = (\varphi - \omega_0 - \alpha_e) / \varepsilon$$

и подставив ее в выражение (10), после преобразований получим

$$R_e = k \times \eta / \varepsilon \times (\alpha_e^{-1} \times (\varphi - \omega_0) - 1) + k \times n_0$$

или, раскрыв скобки,

$$R_e = \alpha_e^{-1} \times k \times \eta / \varepsilon \times (\varphi - \omega_0) - k \times \eta / \varepsilon + k \times n_0 \quad (12).$$

Обозначив

$$A = k \times n_0 - k \times \eta / \varepsilon \quad (13), \quad \text{а}$$

$$D = k \times \eta / \varepsilon \times (\varphi - \omega_0) \quad (14),$$

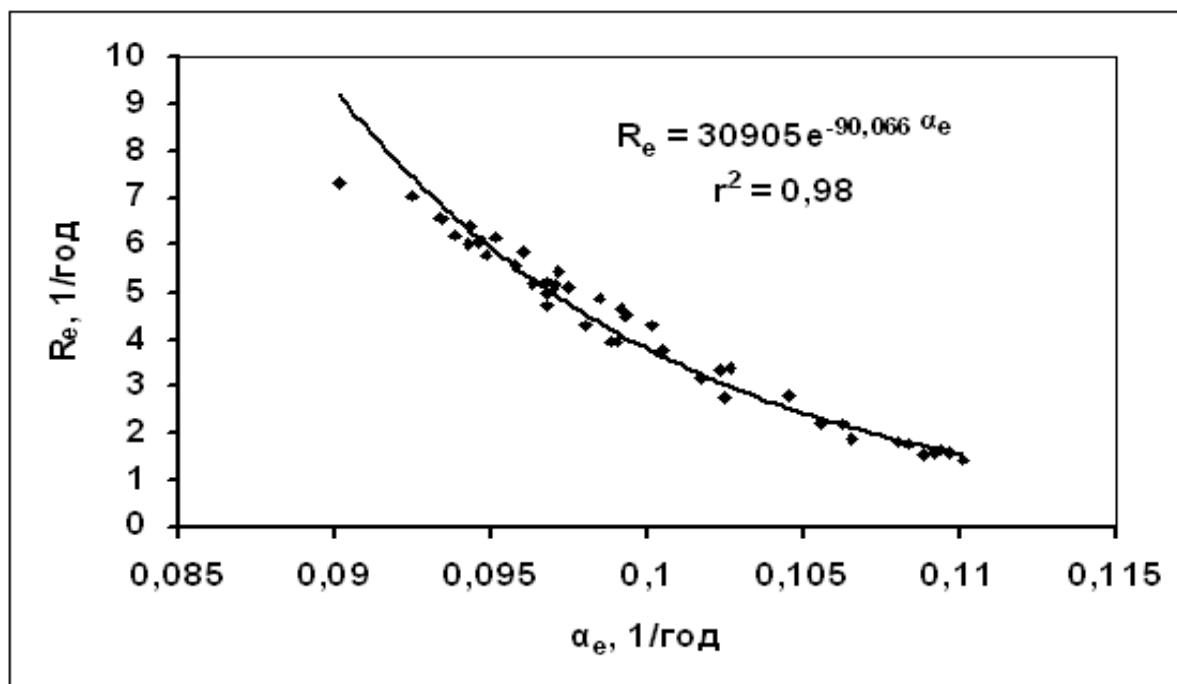
получим выражение

$$R_e = \alpha_e^{-1} \times D + A \quad (15)$$

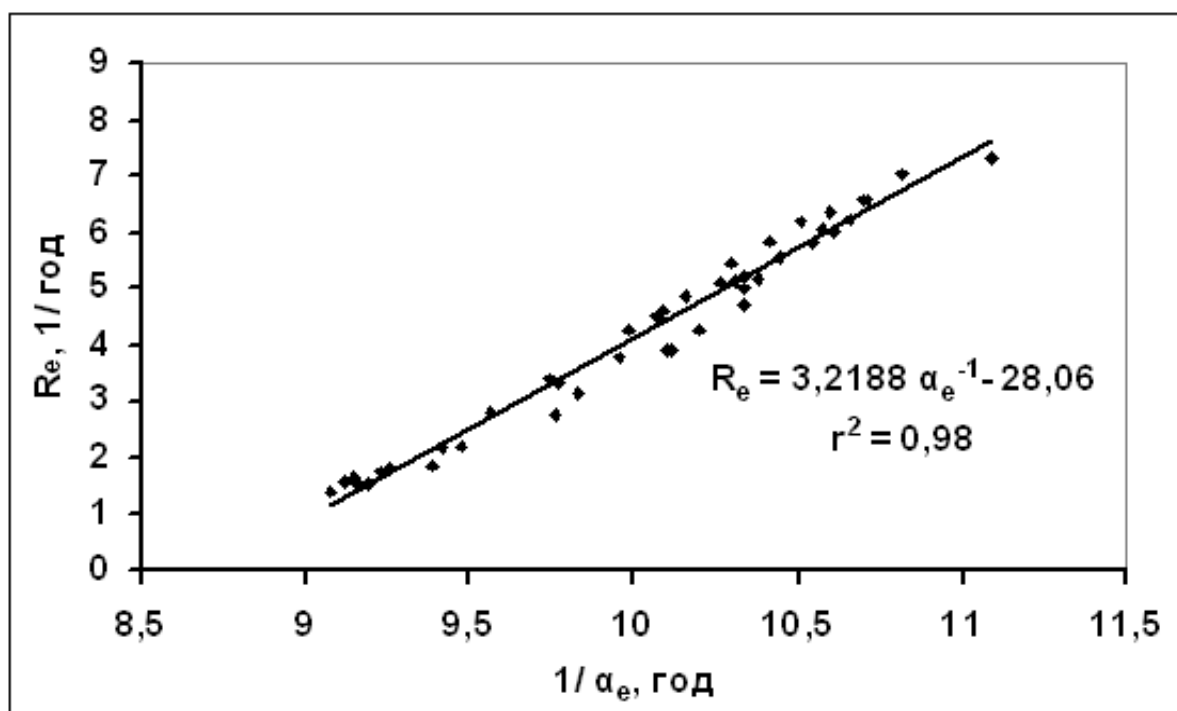
Таблица 1. Параметры корреляции, вычисленные по статистике смертности женского населения Дании

	Стрелер - Милдван			формула (15)		
период, г.г.	K^{**} 1/год	$1/B^{**}$, год	r^{2*}	A , 1/год	D , 1/год ²	r^{2*}
1835/1853	17724	83,6	0,95	-165,5	14,98	0,91
1854/1914	20709	85,9	0,97	-78,1	7,88	0,94
1915/1958	30905	90,1	0,98	-28,06	3,22	0,98
1959/1977	302,5	49,5	0,97	-6,5	0,859	0,97
1978/2007	7329	82,3	0,97	-19,9	2,187	0,98

* достоверность аппроксимации по квадрату коэффициента Пирсона. * * K , B - коэффициенты корреляции Стрелера-Милдвана



а)



б)

а) корреляция Стрелера-Милдвана;

б) аппроксимация формулой (15)

Рисунок 1. Взаимосвязь параметров Гомперца периода 1915/1958 г.г. аппроксимации взаимосвязи параметров R_e и α_e , полученных при обработке базы данных смертности женского населения Дании за период 1915/1958 годы.

В контексте анализа закономерностей смертности формула (15) интересна тем, что ей можно успешно аппроксимировать наблюдаемую на практике связь между параметрами R_e и α_e . В свое время подобное было сделано Стрелером и Милдваном, но с помощью двухпараметрической экспоненты. Тогда эта связь - $R_e = K \cdot \exp(-\alpha_e/B)$ получила название корреляции Стрелера-Милдвана.

Возможность использовать для этой цели и 2-х-параметрическую экспоненту и формулу (15) иллюстрирует рисунок 1.

Видно, что в этом случае достоверность, представленная как квадрат коэффициента Пирсона (r^2), практически не зависит от выбора уравнения аппроксимации – двухпараметрическая экспонента это или формула (15). Обработка статистики смертности в Дании в другие произвольно выбранные исторические периоды, подтвердила этот вывод. Результаты сведены в таблицу 1.

3. Корреляция Кременцовой–Конрадова

Если модель адекватна фактическому механизму старения, то следует ожидать корреляцию между параметрами A и D , т.к. из уравнений (13) и (14) видно, что

$$A = k \times n_0 - D \times (\varphi - \omega_0)^{-1} \quad (16)$$

Результаты проверки модели, с использованием значений параметров A и D , приведенных в таблице 1, иллюстрирует рисунок 2. Из рисунка видна жесткая корреляция между этими параметрами, что объективно подтверждает существование зависимости (16). Ранее подобную корреляцию, но между коэффициентами формулы Стрелера-Милдвана была обнаружена Кременцовой и Конрадовым. Используя ту же исходную базу данных смертности, для сравнения на рисунке 3 показана корреляция Кременцовой–Конрадова.

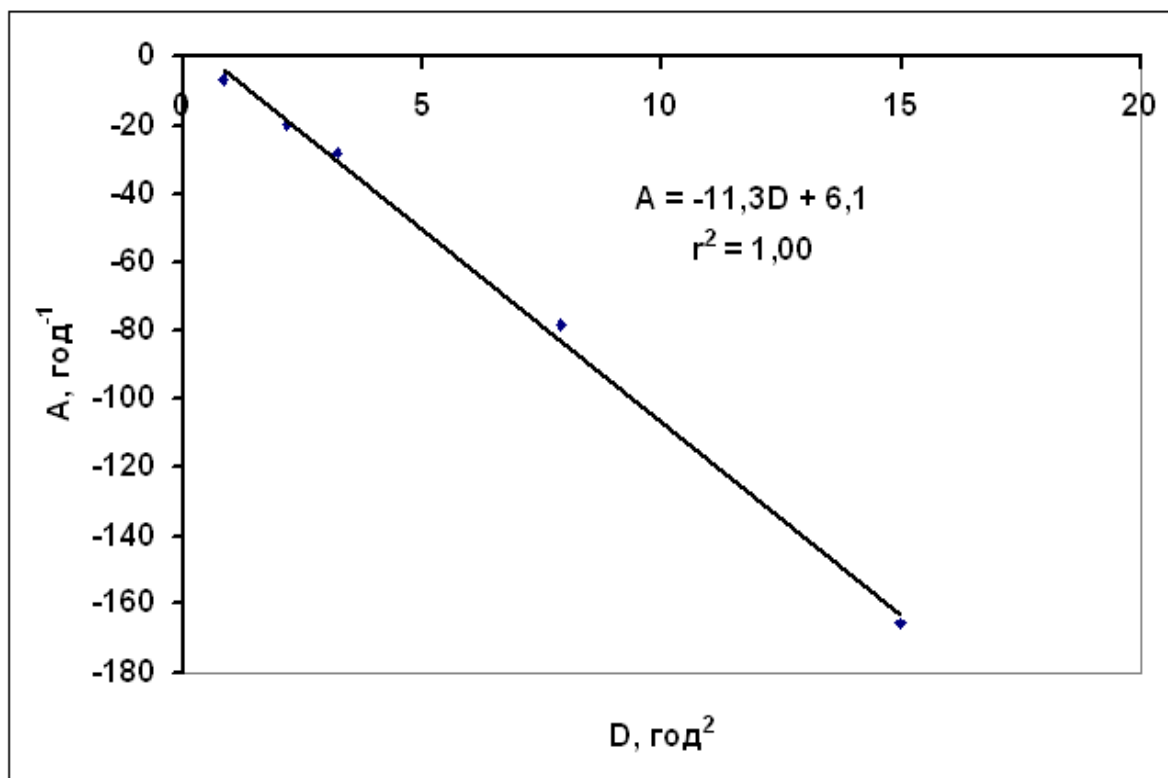


Рисунок 2. Взаимосвязь параметров A и D по данным смертности женского населения Дании

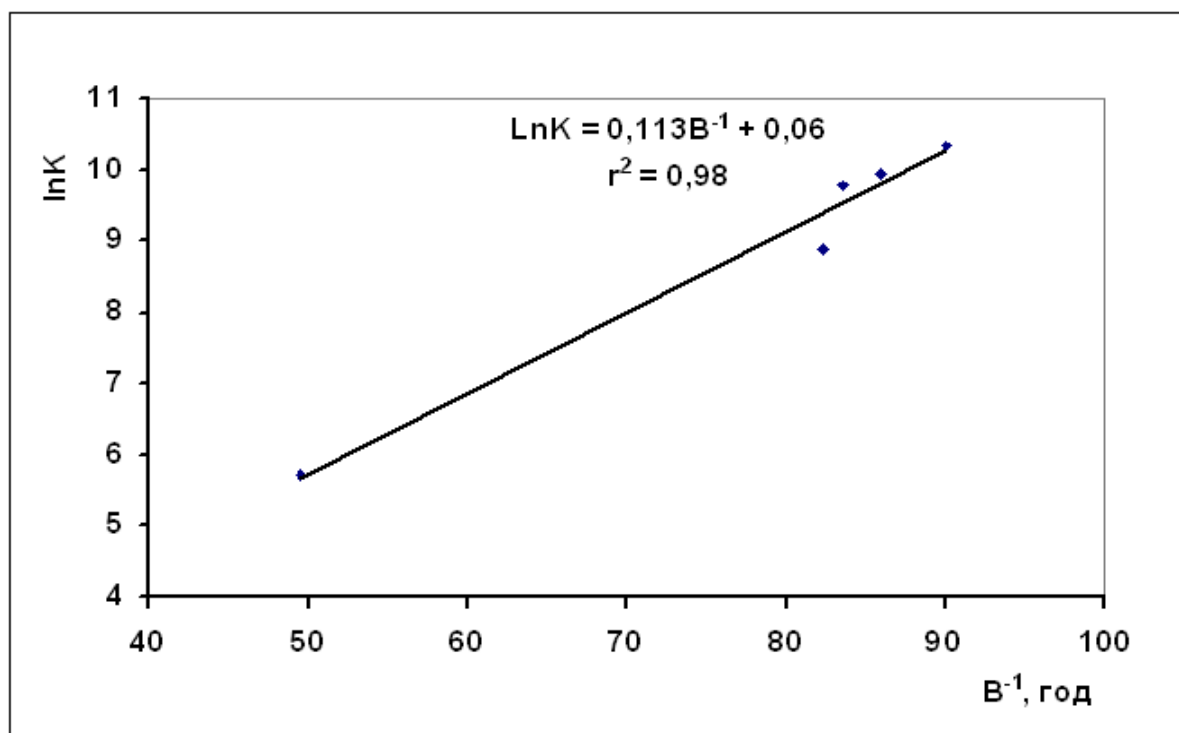


Рисунок 3.. Корреляция Кременцовой–Конрадова по данным смертности женского населения Дании

ЧИСЛЕННЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ $k \times n_0$ И $(\Phi - \Omega_0)^{-1}$ НА ИСТОРИЧЕСКОЙ ШКАЛЕ ВРЕМЕНИ

Базой данных послужили значения R_e и α_e для женского населения Дании, вычисленные по методике [9].

Для каждого временного отрезка: 1835/1839, 1836/1840, 1837/1841 и т.д., с последовательным смещением на 1 год, вплоть до 2003/2007 г.г., с помощью формулы (15) рассчитаны 169 пар значений A и D .

Взаимосвязь коэффициентов A и D иллюстрирует рисунок 4(а). На этом рисунке в координатах A и D выделяются три отдельных тренда, относящихся к определенным отрезками на исторической шкале времени - 1837/1896 г.г., 1897/1968 г.г., 1969/2007 г.г. так, как это в другом масштабе показано на рисунке 4(б).

Для каждого тренда с помощью уравнения (16) определены численные значения выражений $k \times n_0$ и $(\Phi - \omega_0)$. Погрешностями их определения при доверительной вероятности 0,95 показаны в таблице 2. Видно, что различие коэффициента $k \times n_0$ уравнения (16) для трендов периодов 1837/1896 г.г. и 1897/1968 г.г., заведомо превышает коридоры погрешности его определения. Можно утверждать, что на рубеже 19 и 20 веков произошло многократное снижение параметра $k \times n_0$ при относительно незначительном изменении $(\Phi - \omega_0)$.

Таблица 2. Численные значения $k \times n_0$ и $(\Phi - \omega_0)$ в разные исторические периоды

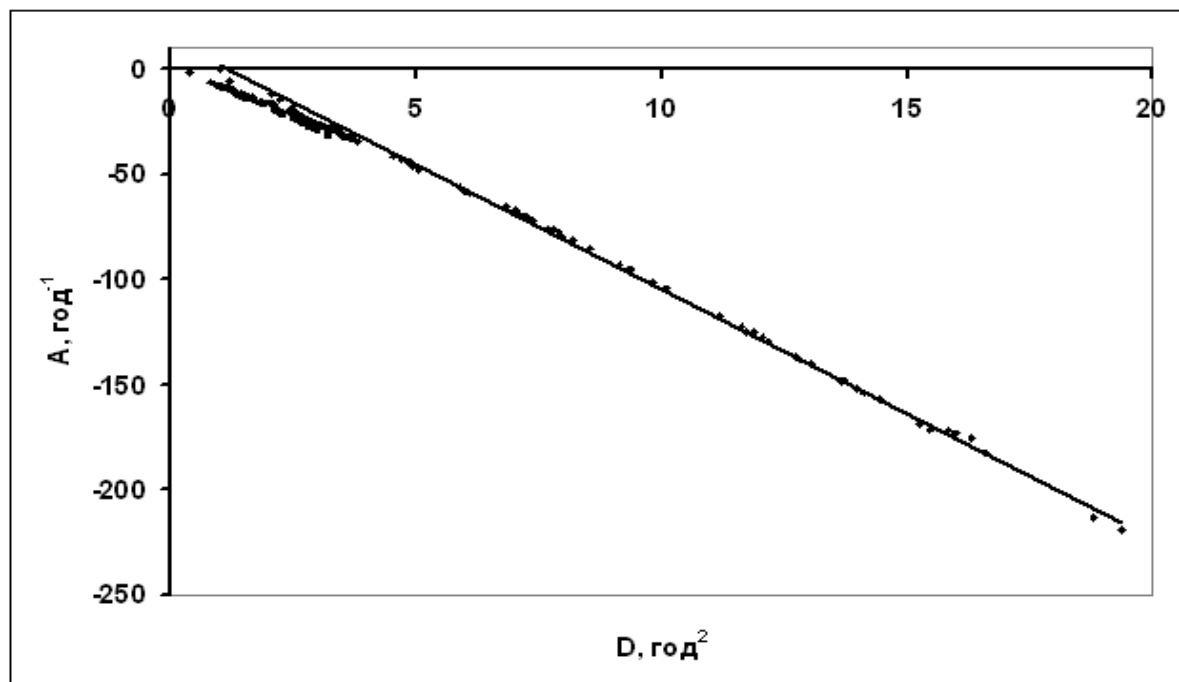
	1837/1896 г.г.	1897/1968 г.г.	1969/2005 г.г.
$k \times n_0$	14 ± 1	$3,0 \pm 0,5$	$2,9 \pm 0,2$
$\Phi - \omega_0$	$0,084 \pm 0,001$	$0,103 \pm 0,002$	$0,095 \pm 0,007$

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В рамках модели обращает на себя внимание, прежде всего, резкое, более чем в 4 раза снижение на рубеже 19 и 20 веков параметра $k \times n_0$.

Анализ формулы (10), показывает, что биологический смысл выражения $k \cdot n_0$ это уровень смертности в начальный период жизни, обусловленный наследуемыми S-дефектами. Следовательно, причина снижения параметра $k \cdot n_0$ возникла в 1811 ÷ 1836 годах, т.к. параметры R_e и α_e определены для 60 ÷ 85 летних групп населения. С позиции РМС это может быть связано с эффектом Зюсса, обусловленным интенсивным сжиганием ископаемого топлива, в котором из-за допотопного возраста углерод представлен исключительно стабильными изотопами ^{12}C и ^{13}C .

Как следствие, начиная как раз с середины 19-го века и в течение последующих 100 лет, концентрация радиоактивного углерода - ^{14}C в атмосфере монотонно снижалась (см. рисунок 5) за счет насыщения атмосферы планеты неактивным изотопом углерода ^{12}C . Таким же образом менялся изотопный состав биосферы, включая организм человека.



а)

б)

Рисунок 4. Связь между коэффициентами A и D уравнения (15) в разные исторические периоды.

а) весь диапазон коэффициентов A и D ;

б) диапазон коэффициентов в области меньших значений D .

Для тех, кто родился в период сформировавшегося устойчивого тренда снижения концентрации ^{14}C в атмосфере, следует ожидать снижение количества наследуемых S -дефектов в виде трансмутаций $^{14}\text{C} \rightarrow ^{14}\text{N}$. Если это так, то всплеск концентрации радиоуглерода во второй половине 20-го века, обусловленный ядерными испытаниями в атмосфере (см. рисунок 6), должен иметь отдаленный отклик на исторической шкале смертности. Этот отклик следует ожидать после 2010. Качественный характер отклика показан на рисунке 7 – линии 2 и 5. Координата точки M – максимума отклика на исторической шкале смертности населения в возрасте t будет определяться динамикой радиоуглерода в биосфере следующим образом:

$$M = t + (1966 \pm 2), \text{ год}, \quad (2)$$

1966 ± 2 – положение на исторической шкале максимума содержания радиоуглерода в биосфере (по содержанию ^{14}C в годовых кольцах деревьев [13]).

На рисунке 7, кроме отдаленного отклика виден всплеск смертности, располагающийся на исторической шкале непосредственно после завершения ядерных испытаний в атмосфере с некоторым временным лагом, который подробно с позиции РМС анализировался в работе [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлен вывод основного уравнения зависимости уровня естественной смертности от возраста и концентрации S -агента, инициирующего старение.

Апробация модели показала, что она увязывает между собой закон Гомперца и известные закономерности взаимосвязи параметров естественной смертности людей: корреляции Стрелера-Милдвана и Кременцовой-Конрадова, которые можно представить как частные проявления более общих закономерностей, описываемых основным уравнением модели.

Обработка статистических данных смертности показала, что имеет место (в терминах РМС) резкое, более чем в 4 раза снижение количества наследуемых при рождении S -дефектов (n_0) у женщин,

родившихся после 1811 ÷ 1836 годов в Дании. Снижение может быть обусловлено устойчивым уменьшительным трендом концентрации радиоуглерода – ^{14}C в атмосфере.

С позиции РМС, после 2010 года в индустриально и социально развитых странах, где общая смертность наиболее близка к естественной, следует ожидать период ее подъема и последующий спад. Координаты максимума естественной смертности населения той или иной возрастной группы на исторической шкале будут соответствовать максимуму концентрации радиоуглерода в биосфере (1966 г) плюс возраст группы.

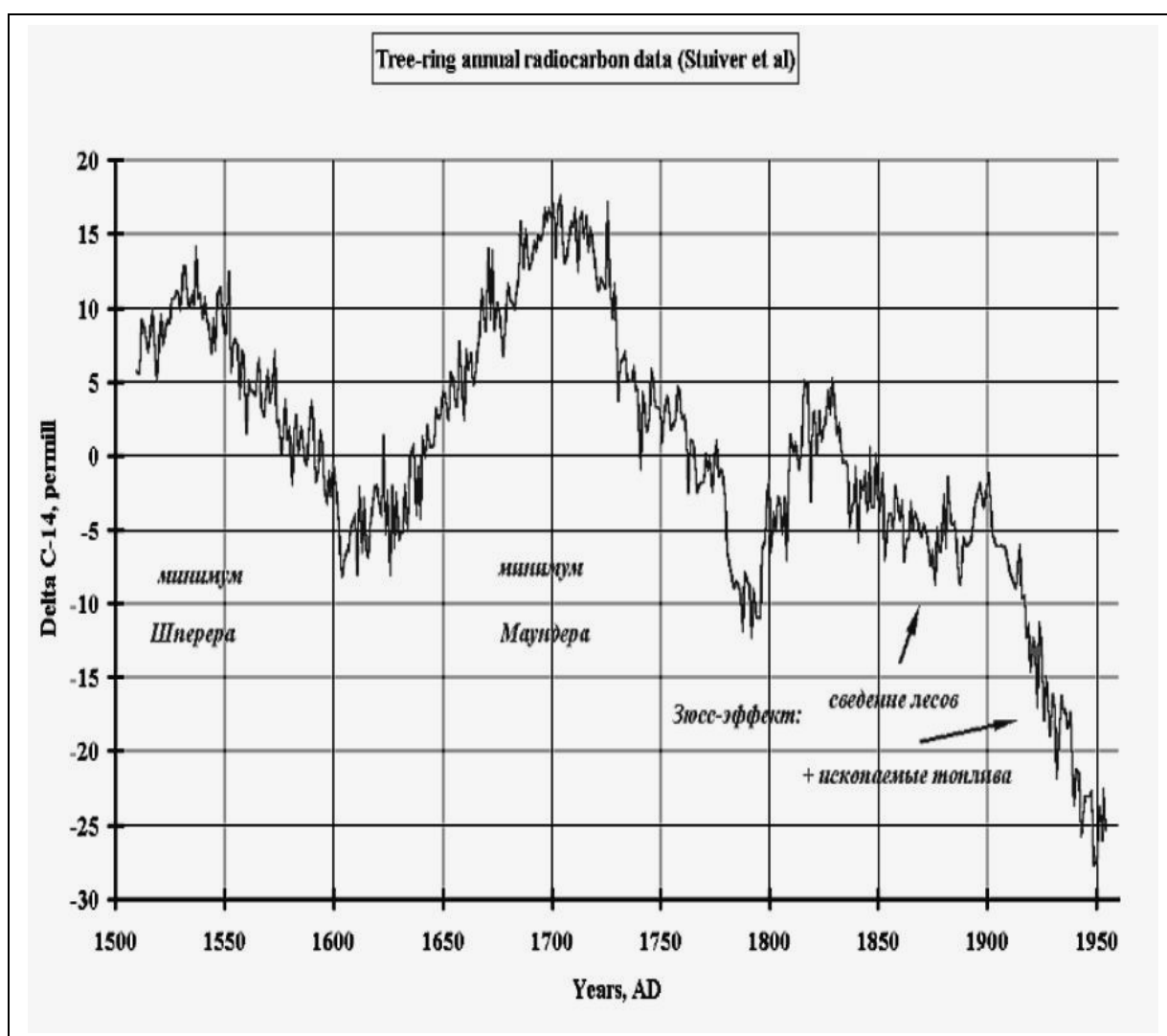


Рисунок 5. Вариации содержания радиоуглерода в атмосфере по кольцам деревьев за последние 400 лет. Заимствовано из [13].

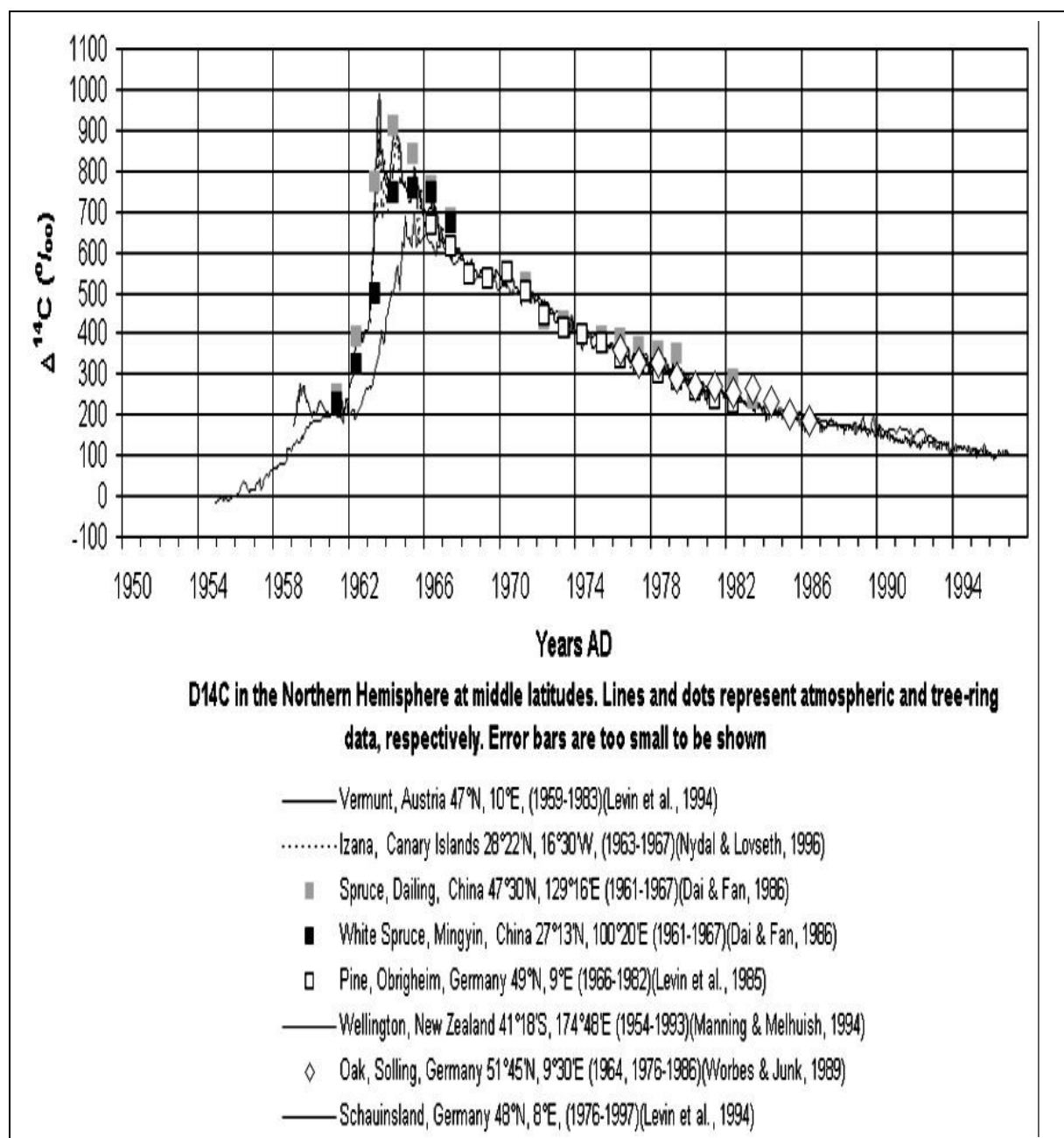


Рисунок 6. Содержания радиоуглерода в годичных кольцах деревьев из различных районов и атмосферное содержание радиоуглерода для северного полушария. Заимствовано из [13].

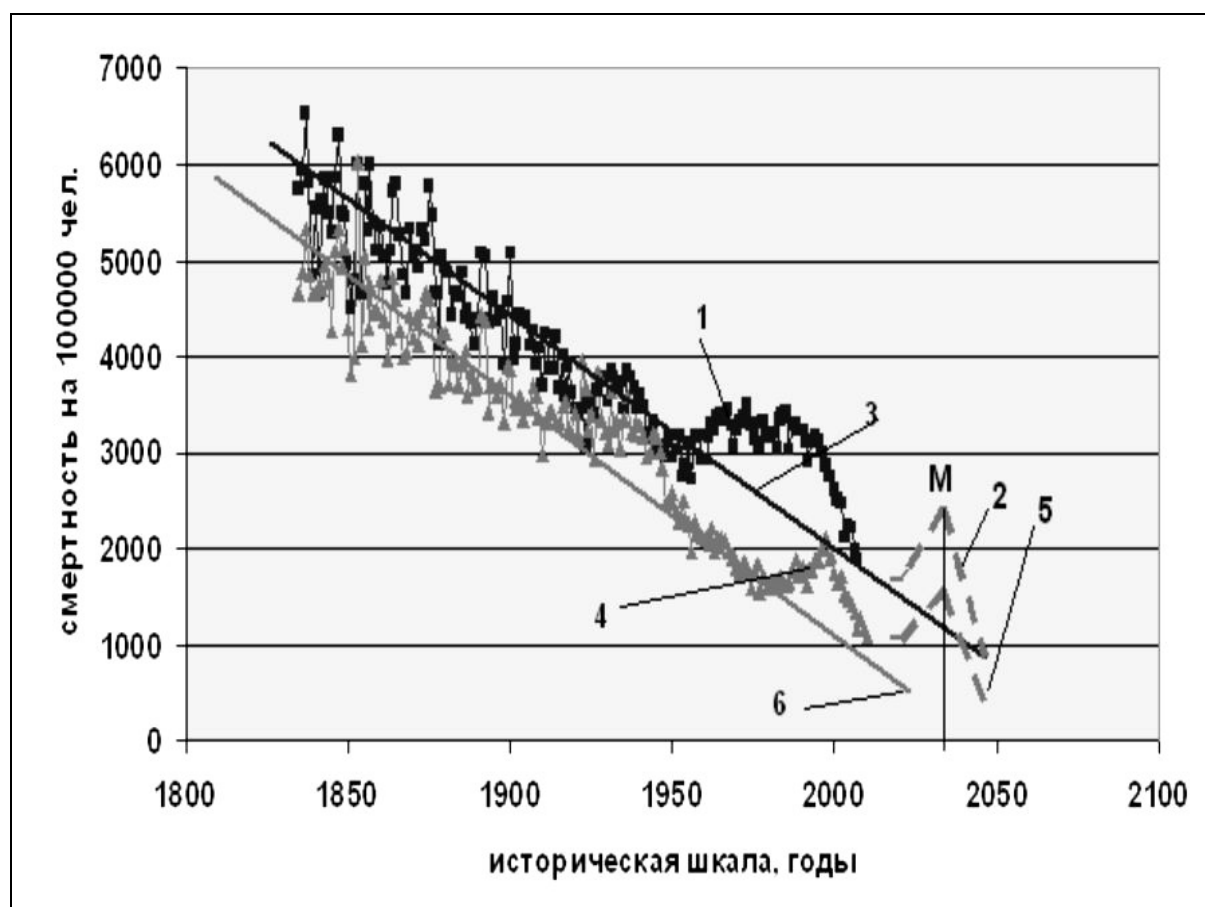


Рисунок 7 Прогнозная оценка динамики естественной смертности населения Дании в возрасте 67 лет

Линии 1,2,3 - ♂; линии 4,5,6 - ♀; 1 и 4 – смертность; 2 и 5 - ожидаемый ход кривых смертности после 2010 года; 3 и 6 – основной тренд исторической динамики

ЛИТЕРАТУРА

1. Jones H.B. A special consideration of the aging process, disease and life expectancy//Adv. Biol. and Med. Phys. 1956. N4. P.281 - 337.
2. Le Bras H. Lois de mortalite et age limite//Population. 1976. N31. P.655 - 692.
3. Гаврилов Л.А. Математическая модель старения животных// ДАН СССР. 1978. Т.238. №3. С.490-492.
4. Germansky A.M., Germanskaia A.A. Radiocarbon mechanism of aging//Rejuvenation Research. 2006. Vol.9. N2. P.309-317.
5. Семенов Н.Н. Развитие теории цепных реакций и теплового воспламенения. М.:Знание,1969. 95 с.

6. Gompertz B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality and on a new mode of determining life contingencies// Philos. Trans. Roy. London. 1825. Vol.A. N115. P.513 - 585.
7. Стрелер Б. Время, клетки и старение. М.:Мир, 1964. 272 с.
8. Кременцова А.В., Конрадов А.А. Историческая динамика распределения продолжительности жизни человека//Успехи геронтол. 2001. №8. С.14-20.
9. Germanskaia A.A. Natural background radioactive carbon and the natural death rate of people//Rejuvenation Research. 2006. Vol.9, N2. P. 302-308.
10. http://www.mortality.org/hmd/DNK/STATS/Mx_1x1.txt.
11. Справочник по прикладной статистике. В 2-х т. Т.1: Пер. с англ/Под ред. Э.Ллойда, У.Ледермана, Ю.Н.Тюрина. - М.: Финансы и статистика, 1989. 510 с.
12. Кузин А.М. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. - М.: Наука, 1995. 158 с.
13. Левченко В. Радиоуглерод и абсолютная хронология: записки на тему. <http://hbar.phys.msu.ru/gorm/dating/wally-1.htm>.
14. Германский А.М. Атмосферный радиоуглерод и смертность в Дании. 2005. Интернет-журнал 'Коммерческая биотехнология' <http://www.cbio.ru/v5/modules/news/article.php?storyid=1527>.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ

ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ В ИЗУЧЕНИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ СТАРЕНИИ: ИЗМЕНЕНИЯ КИСЛОТНОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЫ

М.А.Гаврилов, В.И.Донцов, И.В.Мальцева

Внутриклеточные изменения составляют основу старения. В настоящее время флюоресцентные зонды являются мощным средством изучения многих сторон внутриклеточных процессов. В ходе физиологической нагрузки, при гипоксии, старении и пр. возможны изменения рН, отражающиеся на всех ферментных и иных процессах происходящих в клетке. Для контроля рН клетки наиболее чувствительным, простым и доступным является широко известный флюоресцентный зонд 9-аминоакридин (9-АА), слабодиссоциирующий щелочным агент, выражено накапливающийся внутри клетки. Использование зонда позволило нам показать возрастной ацидоз на примере клеток селезенки старых мышей, что должно значимо влиять на протекание многих клеточных процессов в старости.

ВВЕДЕНИЕ

Внутриклеточная рН поддерживается в клетке мощными буферными системами, однако, в ходе физиологической нагрузки или при гипоксии и других влияниях возможны изменения рН, отражающиеся на всех ферментных и иных процессах происходящих в клетке. В ходе старения изменения внутриклеточной рН может выраженно влиять как на протекание многих внутриклеточных биохимических процессов, так и на жизнеспособность самой клетки [1, 2].

В настоящее время для контроля рН клетки используются флюоресцентные зонды, из которых наиболее чувствительным, простым и доступным является широко известных тест с 9-аминоакридином (9-АА), который является слабодиссоциирующим щелочным агентом, выражено накапливающимся внутри клетки [4, 5] пропорционально снижению рН (закислению).

В пределах концентрации 0,1 – 10 мкМ вход 9-АА (слабая щелочь) пропорционален внутриклеточному рН, причем отношение внутриклеточный/внеклеточный 9-АА может достигать 50-500 для рН 7,5 – 6,0; максимум накопления – через 15 минут; используемая длина волны возбуждения – 380-400 нм, флюоресценции - 430-455 нм (максимум 430 нм, вторичные максимумы – 455, 480, 520 нм).

Для калибровки рН используют среду с нигерицином (K⁺/H⁺ ионофор) с добавлением внеклеточного K⁺ (осмолярность поддерживается холин-хлоридом), с формулой: $\text{pH} = 6,065 + 0,634 * \text{Log}(\text{KCl})$

Для более интенсивных изменений рН (до 4,0 и ниже), например, при активации фагоцитоза нейтрофилов, часто используют 2'-dichlorofluorescein diacetate [3], с длиной волны возбуждения 504 нм и излучения 529 нм. Для стандартизации флюоресценции ФИТЦ и Oregon Green 488 при различных рН используют K⁺/H⁺ ионофор нигерицин; отношение флюоресценции при возбуждении 498/450 нм пропорционально рН клеток.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследований использовали 12 молодых и старых (4 и 14 мес) мышей, самок, линии BALB/c, питомника «Столбовая». Мононуклеары селезенки выделяли центрифугированием клеток в градиенте фиколла с плотностью 1,090. Выделенные и отмытые клетки суспендировали в полном расворе Хенкса. Для сравнительного определения внутриклеточного рН выделенные клетки инкубируют в количестве 1-10 млн клеток в физиологической среде с 1-10 мкМ 9-АА при 37°C в течение 20 минут и быстро отмываются центрифугированием. Содержание внеклеточного и внутриклеточного 9-АА измеряли по синей флюоресценции спектрофлюориметрически при 390 нм возбуждения и флюоресценции – 430-450 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами было проведено исследование накопления 9-АА клетками селезенки молодых (4 мес) и старых (14 мес) самок мышей Balb/c. Клетки селезенки молодых мышей накапливали 45,6±1,7% добавлен-

ного флюоресцентного зонда, старых: $57,2 \pm 1,3\%$, ($p < 0,01$) что указывает на закисление внутриклеточной среды с возрастом.

Обнаруженный внутриклеточный возрастной ацидоз указывает на напряжение внутриклеточных процессов и несомненно отражается на протекании многих

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование флюоресцентных зондов является мощным методом изучения внутриклеточных процессов. Флюоресцентный зонд 9-аминоакридин обладает выраженной чувствительностью к внутриклеточным изменениям pH и позволяет зарегистрировать закисление среды в клетках старых животных. Внутриклеточный возрастной ацидоз указывает на напряжение внутриклеточных процессов и несомненно отражается на протекании многих внутриклеточных процессов и, соответственно, на функционировании тканей старых организмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донцов В.И. Экспериментальная геронтология. М.: Альтекс. 2011. 432 с.
2. Донцов В.И. Методы исследования старения. Lambert Academic Publishing. 2012. 330 с.
3. Ferrer A.S. et al. Anal. Biochem. 1990. Vol.187. P.129
4. Schonfeld M., Schickler H., FEBS Lett. 1984. Vol.167. P.231.
5. Vigne et al., FEBS Lett. 1984. Vol.172. P.275.

ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ В ИЗУЧЕНИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ СТАРЕНИИ: ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОВЯЗКОСТИ МЕМБРАН КЛЕТОК

В.И.Донцов И.В.Мальцева, В.Е.Чернилевский

Микровязкость мембран клетки является интегральным параметром ее состояния. Обычным методом ее изучения является исследование флюоресценции гидрофобного зонда – пирена. Для клеток селезенки старых мышей отмечено статистически-значимое отличие от молодых для всех трех основных показателей: снижается общая полярность микроокружения зонда, повышается текучесть белок-липидных контактов и снижается текучесть липидного слоя мембран. Такие изменения неизбежно должны влиять на общую реактивность клеток и прямо или опосредованно – на внутриклеточные процессы.

ВВЕДЕНИЕ

Механизм возникновения и развития многих нормальных и патологических состояний, в том числе клеточной пролиферации и злокачественного роста, связан с нарушением структуры и свойств биологических мембран. Микровязкость мембран является интегральным показателем общего состояния клетки, зависящим от нескольких компонентов: ненасыщенности липидов, содержания холестерина в мембране, фосфолипидного состава и количества белка, внедренного в мембрану [1-5]. Важнейшим регулятором текучести мембран считают холестерин. Одной из причин снижения текучести мембран клеток крови может являться и изменение состава сфинголипидов, существенно влияющих на структуру липидного бислоя мембран, например, уменьшение молярного соотношения церамиды/ганглиозиды; ганглиозиды ингибируют противоопухолевый иммунитет, а церамиды являются супрессорами опухолевого роста. Важное значение в изменении структурно-функциональных свойств мембран придают также увеличению содержания сфингомиелина, способствующего наряду с холестерином увеличению микровязкости липидной фазы мембран [4].

Известно, что увеличение ненасыщенности липидов (повышение числа двойных связей) ведет к повышению текучести мембран; особенно значимым является появление первой двойной связи в липидной молекуле, с увеличением степени ненасыщенности эффект прогрессивно снижается [5].

Повышение микровязкости мембран клеток крови ухудшает их вязко-эластические и реологические свойства, затрудняет микроциркуляцию, снижает активность мембраносвязанных ферментов, тормозит такие функционально важные мембранные процессы как связывание рецепторов со вторичными мессенджерами и лигандами, выполнение лимфоцитами иммунных функций. Предполагается, что именно повышение ригидности липидного бислоя мембран является одной из причин значительного снижения активности многих ферментов при опухолевом росте [4].

Между интенсивностью клеточной пролиферации и содержанием холестерина (и некоторых других липидов) в плазматической мембране существует двусторонняя связь. В частности, было показано, что в неделящихся культивируемых клетках, претерпевающих "стационарное старение", происходит накопление холестерина в плазматической мембране, приводящее к увеличению ее микровязкости; воздействие на "состарившиеся" клетки липосомными препаратами, извлекающими холестерин из клеточной мембраны, приводит к "омоложению" этих клеток; воздействие на активно пролиферирующие трансформированные клетки липосомными препаратами, обогащающими клеточную мембрану холестерином, резко снижает их способность к делению, т.е. «старит» клетки. Все это свидетельствует о важной роли состояния плазматической мембраны в регуляции процессов клеточного старения, хотя первичный «запуск» этих процессов происходит на уровне хроматина.

Показано также, что лейкоциты с высоким соотношением холестерин/фосфолипиды и повышенной поэтому микровязкостью имеют существенно сниженную иммунную реактивность. Считают, что с этим может быть связано и снижение антиопухолевой

активности лейкоцитов у онкологических больных [5]. Увеличение микровязкости иммунокомпетентных клеток крыс показано при рентгеновском облучении, вызывающем вторичное иммунодефицитное состояние организма.

Текучести принадлежит ключевая роль в регуляции всех процессов, происходящих в мембранах. Этот комплексный показатель отражает как структуру, так и диффузионные аспекты липидной составляющей мембран и легко реагирует на метаболические изменения и внешние воздействия [5].

Структура и свойства мембран лимфоцитов и эритроцитов крови является удобным и чувствительным показателем общего состоянии мембран организма. Исследуют обычно микровязкость липидного бислоя и зон белок-липидных контактов лимфоцитов и эритроцитов.

Оценку относительной микровязкости мембран клеток крови осуществляют обычно методом латеральной диффузии гидрофобного зонда пирена ($C_{16}H_{10}$). Определение микровязкости основано на образовании эксимеров (возбужденных димеров) пирена.

Коэффициент эксимеризации пирена F_3/F_m , равный отношению интенсивности флюоресценции эксимеров (длина волны испускания 470 нм) и мономеров (длина волны испускания 395 нм), находится в **обратной** зависимости от относительной микровязкости (прямо пропорционален **текучести** мембраны). Микровязкость липидного бислоя мембран оценивают при длине волны возбуждения 334 нм, а микровязкость зон белок-липидных контактов при длине волны возбуждения 286 нм [1].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследований использовали 12 молодых и старых (4 и 14 мес) мышей, самок, линии BALB/c, питомника «Столбовая». Мононуклеары селезенки выделяли центрифугированием клеток в градиенте фиколла с плотностью 1,090. Выделенные и отмытые клетки суспендировали в полном расворе Хенкса.

Для изучения микровязкости клеточных мембран суспензию клеток разводили до концентрации 1-10 млн кл/мл и инкубировали с

пиреном (1-5 мкМ на 1 мл суспензии) при 25° С в течение 1 мин при постоянном встряхивании. Интенсивность флюоресценции димеров и мономеров пирена определяли на спектрофотометре «Панорама»: как отношение флюоресценции (F) при 372/393 нм (возбуждение флюоресценции 282 нм) – отражает полярность окружения; отношение F470/F395 нм (возбуждение при 286 нм) – отражает вязкость белково-липидных контактов; F470/F395 нм (возбуждение при 343 нм) – отражает вязкость липидных слоев мембраны клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нормальные значения для человека F_3/F_m составляют: для лимфоцитов: белок-липидные контакты – $2,92 \pm 0,15$, липидный бислой – $2,95 \pm 0,15$; для эритроцитов: белок-липидные контакты – $2,75 \pm 0,17$, липидный бислой – $2,77 \pm 0,20$.

По другим авторам, значения F_3/F_m варьируют: 3,66 – 2,9 – 1,8 – 1,37 – 1,2 – 0,5. Длина волны возбуждения также может составлять: 282, 285, 286, 334 нм. Длина волны регистрации флюоресценции: 370, 372, 390, 393, 395 и 470 нм.

Обычно используют для исследования:

- микровязкости белок-липидного слоя: отношение флюоресценции при 470/395 нм при возбуждении 286 нм,
- микровязкости липидного слоя: отношение флюоресценции при 470/395 нм при возбуждении 334 нм,
- полярности окружения пиренового зонда: отношение флюоресценции при 372/393 нм при возбуждении 282 нм.

Общий вид флюоресценции пирена в присутствии клеток и без них (спектрофлуориметр «Панорама») показан на рисунках 1 и 2.

Мы исследовали флюоресценцию пирена для клеток селезенки мышей BALB/c возраста 4 мес и 14 мес. Оптимальными оказались: 10-20млн клеток на мл в растворе Хенкса (без глюкозы и кальция), 2 мкМ пирена (в этиловом спирте, приготовлен заранее), 5 мин инкубации при 25°С; исследовалась флюоресценция при 470, 395, 393 и 372 нм при возбуждении 282, 286 и 334 нм, спектрофлуориметр «Панорама», низкая чувствительность, режим полной коррекции.

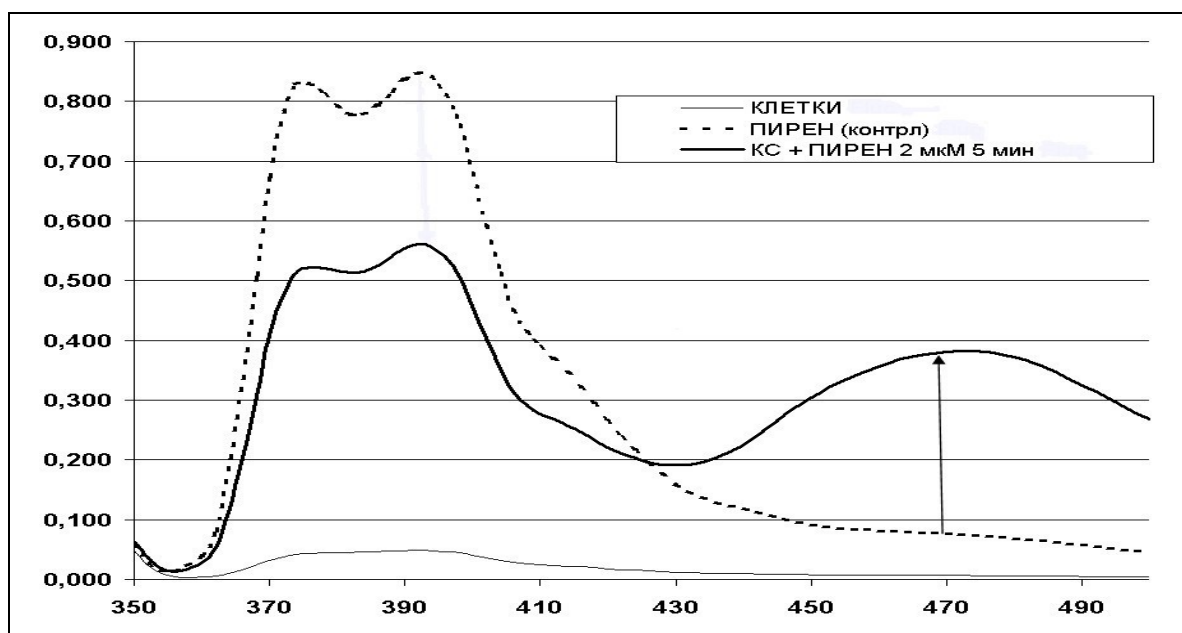


Рисунок 1. Спектр флюоресценция пирена в растворе Хенкса в присутствии и без клеток селезенки мышей при длине волны возбуждения **334** нм.

По горизонтали – длина волны флюоресценции, По вертикали – величина флюоресценции (у.е.).

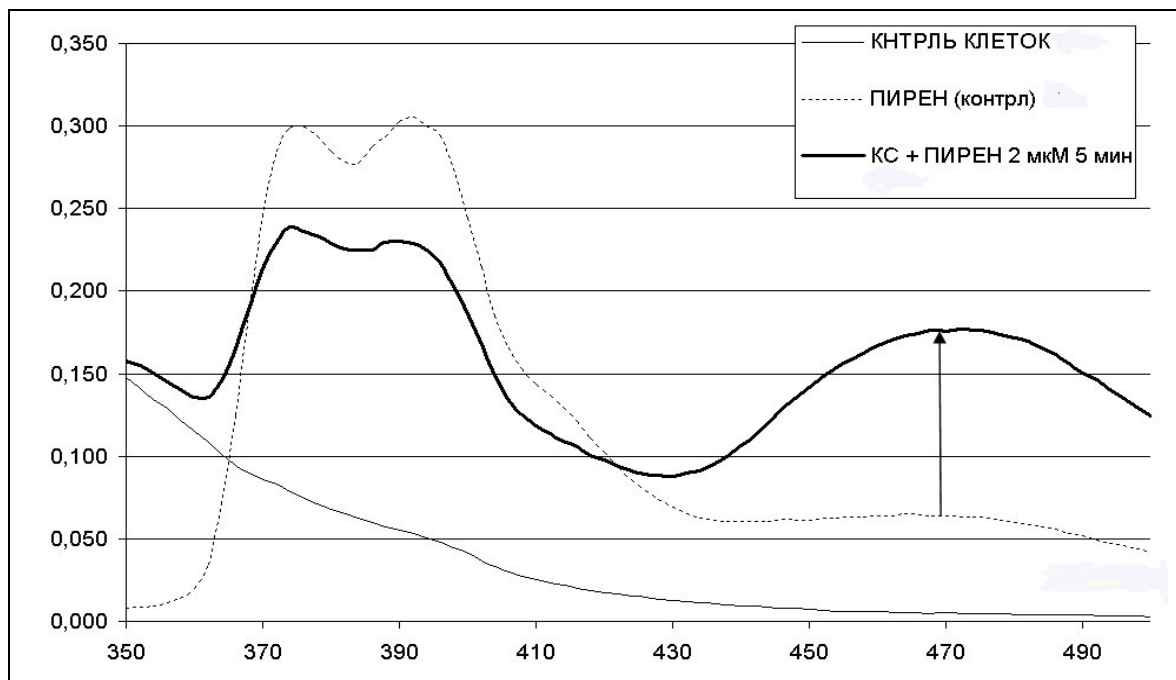


Рисунок 2. Спектр флюоресценция пирена в растворе Хенкса в присутствии и без клеток селезенки мышей при длине волны возбуждения **282** нм. Обозначения те же.

На таблице 1 и рисунке 3 показано, что для молодых и старых мышей отмечается статистически-значимое различие для всех трех показателей: у старых мышей изменяются полярность (снижается), белково-липидных контактов (повышение текучести) и микровязкости липидов мембран клеток (снижение текучести).

Таблица 1.

Возрастные изменения микровязкости мембран клеток лимфоцитов у мышей

	Полярность	Вязкость белок-липиды	Вязкость липидов
Молодые	0,562±0,071	0,373±0,015	0,321±0,004
Старые	0,408±0,067	0,389±0,017	0,309±0,006
P<	0,001	0,05	0,001

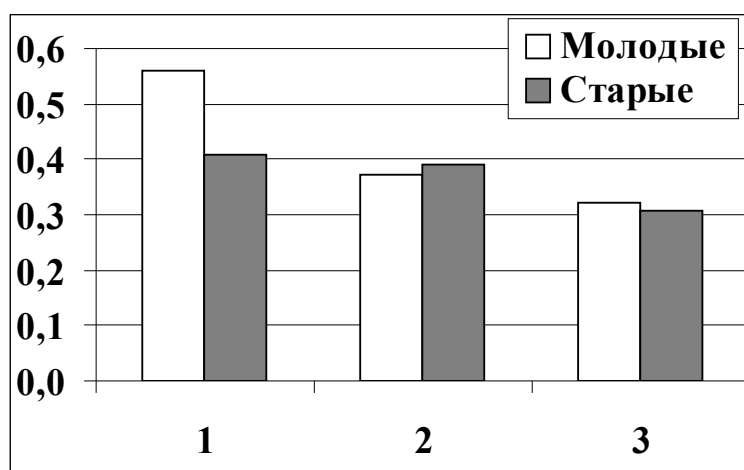


Рисунок 1. Возрастные изменения микровязкости мембран клеток лимфоцитов у мышей.

1 – полярность, 2 – вязкость белок-липидных контактов, 3 – вязкость липидов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, для клеток селезенки старых мышей отмечается статистически-значимое отличие от клеток молодых для всех трех показателей: снижается полярность, повышается текучесть белково-липидных контактов и снижается текучесть липидного слоя мембран.

Такие изменения неизбежно должны влиять на общую реактивность клеток и прямо или опосредованно – на внутриклеточные процессы

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука. 1980. 450 с.
2. Донцов В.И. Экспериментальная геронтология. М.:Альтекс. 2011. 432 с.
3. Донцов В.И. Методы исследования старения. Lambert Academic Publishing. 2012. 330 с.
4. Дятловицкая Э.В. Биохимия. 1995. Т.60. С.843-850.
5. Shinitzky M. Biochim. Biophysica Acta. 1984. Vol. 738. P.251-261.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ СТАРЕНИИ У МЫШЕЙ И ЭФФЕКТ ТРАНСФЕР ФАКТОРА

В.И.Донцов, В.Н. Крутько, В.Е.Чернилевский

Известно, что стволовые клетки (СК) обладают высоким пролиферативным потенциалом и их истощение ведет к снижению ауторегенерации тканей, типичной для процесса старения организма. Исследования методом магнитной сепарации с моноклональными антителами против антигена CD133 показали снижение числа CD133+ клеток крови и селезенки при некотором их повышении в костном мозге, что указывает на механизмы снижения миграции СК на периферию при сохранении их общего числа. Трансфер фактор оказывал стимулирующее действие на число этих клеток как в костном мозге, так и на периферии, что может быть одним из механизмов отмеченного нами ранее геропротекторного эффекта этого препарата у мышей и человека.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что эмбриональные ткани являются источником уникальных по своим свойствам стволовых клеток, обладающих высоким потенциалом к росту и дифференцировке [8, 12]. Термин "стволовая клетка" (СК) определяет популяцию тканевых или циркулирующих в

крови низкодифференцированных клеток-предшественников, обладающих способностью к самообновлению и дифференцировке в клеточные компоненты различных тканей.

Наиболее известны:

- Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) – мультипотентные стволовые клетки, дающие начало всем клеткам крови – эритроцитам, В-лимфоцитам, Т- лимфоцитам, нейтрофилам, базофилам, эозинофилам, моноцитам, макрофагам и тромбоцитам; кроме костного мозга ГКС обнаружены в системном кровотоке и скелетных мышцах.

- Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) – мультипотентные региональные стволовые клетки, содержащиеся во всех мезенхимальных тканях (главным образом в костном мозге), способные к дифференцировке в различные типы мезенхимальных тканей, а так же в клетки других зародышевых слоёв.

- Стромальные стволовые клетки (ССК) – мультипотентные стволовые клетки взрослого организма, образующие строму костного мозга (поддерживающую гемопоэз), имеющие мезенхимальное происхождение.

- Тканеспецифичные стволовые клетки (ТСК) – располагаются в различных видах тканей и в первую очередь, отвечают за обновление их клеточной популяции, первыми активируются при повреждении. Классически считалось, что тканеспецифические СК обладают более низкой потентностью, чем стромальные СК костного мозга. Однако последние исследования показывают высокую пластичность ТСК (способность к дедифференцировке и дифференцировке в другие типы клеток). В настоящее время привлекают все большее внимание фибробласты, в результате исследований, показывающих возможность обратной трансформации фибробластов в МСК.

Согласно современным данным, практически все известные тканевые системы содержат то или иное количество СК. Тем не менее, практическое значение для выделения СК с целью их последующего клинического применения имеют лишь ткани, содержащие реальные количества клеток-предшественников. К ним можно отнести костный мозг, жировую ткань, кровь и строму пуповины/плаценты.

При попадании во взрослый организм, эмбриональные стволовые клетки способны оказать глубокое влияние на все его органы и ткани. Кроветворные стволовые клетки используются для восстановления кроветворения у пациентов с онкологическими и гематологическими заболеваниями, инсульта, нейродегенеративных заболеваний, травм головного и спинного мозга и пр.

Еще задолго от открытия стволовых клеток было отмечено уменьшение с возрастом способности к регенерации у высших животных и человека, и замедление репаративных процессов. Этот феномен связывают как с уменьшением количества стволовых клеток, так и реактивности организма на повреждающие воздействия.

С увеличением возраста количество СК в организме уменьшается. При рождении 1 МСК приходится на 10.000 стромальных клеток костного мозга (СККМ), у подростков 1 МСК на 100.000 СККМ, в 50 лет – 1 на 500.000 и в 70 лет 1 на 1000.000. Число ооцитов в яичниках женщины имеет аналогичную динамику с возрастом.

В отношении связи количества прогениторных клеток ситуация не столь однозначная.) Предложена модель истощения пула клеток предшественников как ключевого момента в снижении способности старого организма к восстановлению; однако, показано также [10], что количество эндотелиальных клеток предшественников не изменяется с возрастом, а ключевым моментом является зависимое от возраста и протеосомной активности снижение стабильности индуцируемого гипоксией фактора 1 альфа.

Методы определения стволовых клеток.

В настоящее время основную роль в определении стволовых клеток принадлежит их маркерам. Методически используют моноклональные антисыворотки против маркеров клеток и анти-иммуноглобулины меченные флюоресцирующим агентом, что позволяет исследовать клетки в иммунофлюоресцентном тесте.

В настоящее время считают, что основной поверхностный маркер гемопоэтических стволовых клеток человека является гликопротеин CD34, большинство протоколов выделения гемопоэтических стволовых клеток используют CD34 в качестве основного критерия. Однако,

по последним данным, гемопоэтические стволовые клетки, которые способны к длительному самообновлению обладают фенотипом CD34-. Поэтому в настоящее время ведется поиск других характерных маркеров гемопоэтических стволовых клеток. Сейчас достоверно установлено, что такими маркерами для мышинных клеток могут быть Sca-1, Thy-1 (CD90), CD38, CD117(C-kit), CD133 (Promin-1); для человеческих - C1q(C1qRp), AC133, CD59, Thy-1(CD90), низкий уровень CD38 и C-kit.

Помимо стволовых клеток интерес могут представлять коммитированные клетки предшественники (committed hematopoietic progenitor cells), т.е. клетки уже определившиеся с областью своей специализации, но еще не дошедшие до последней стадии дифференцировки. Маркерами таких клеток у человека служат CD84, NoxB4.

Дифференцированные клетки идентифицируются при помощи панели антител на типичные маркеры специализированных клеток. Присутствие хотя бы одного такого маркера является основанием для отсева клетки как не являющейся стволовой.

Среди маркеров человеческих дифференцированных гемопоэтических клеток обычно используют различные комбинации из CD2, CD3, CD10, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD24, CD33, CD36, CD45RA, CD56, Glycophorin A (CD235a) и Nuclear Erythroid Cell Surface Antigen. Для мышинных клеток - это CD3, CD4, CD5, CD8a, CD11b, CD45R.

Все шире использует метод магнитной сепарации клеток. Типичный набор для выделения стволовых CD133+ клеток представляет собой набор магнитных меток для получения CD133+ клеток и рассчитан по получение нужной фракции из общего числа $2 \cdot 10^8$ клеток. Этот набор позволяет в одну стадию изолировать не гемопоэтические и ранние предшественники гемопоэтических и стволовых клеток. Набор обычно содержит блокирующий реагент FcR Blocking Reagent и микросферы MACS MicroBeads, конъюгированные к мышинным моноклональным антителам против человеческого CD 133 (клон AC 133), что позволяет идентифицировать эпитоп CD 133/1. Рекомендуется использовать CD133/2 (293C3)-PE или

CD133/2 (293C3)-APC для количественного мечения CD133-выделенных клеток, поскольку указанные наборы позволяют узнавать эпитоп CD 133/2.

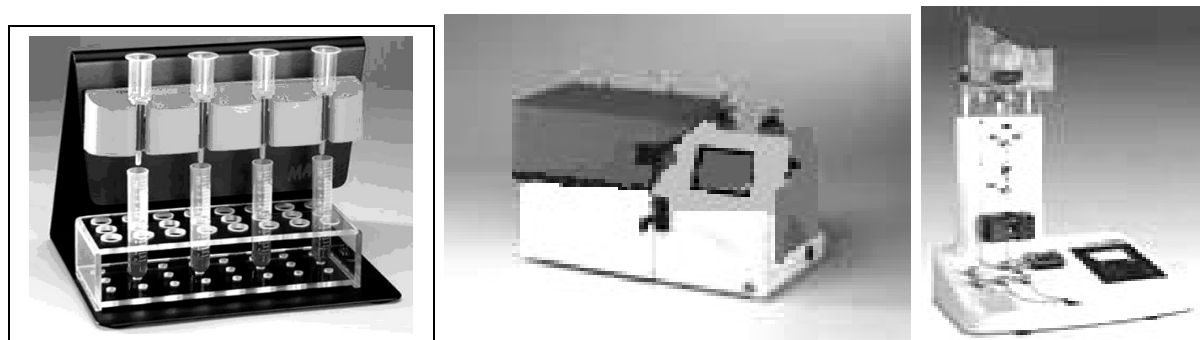


Рисунок 1. Аппараты магнитосепарации клеток.
Слева направо: ручной, автоматический, клинический.

Исследование функций стволовых клеток *in vivo*.

Метод состоит во введении облученным реципиентам клеток костного мозга и визуальным наблюдением через несколько дней макроскопически видимых колоний в селезенке (КОЕ-с). Можно как количественно подсчитать число КОЕ, так и определять диаметр образуемых колоний.

Широко используется перенос стволовых клеток (обычно костный мозг как их источник) для исследования их функции у реципиентов, в том числе в комбинациях: молодой донор – старый реципиент и старый донор – молодой реципиент.

Колониеобразующие единицы при переносе от молодых мышей к старым воспроизводятся меньше в числе и размерах у старых животных, но достаточно активны при трансплантации костного мозга (источник КОЕ) от старых животных к молодым. Активация мобилизации стволовых клеток из депо, повышение их числа в крови, активация их функции в тканях – одно из современных перспективных направлений в профилактике старения и биоактивации тканей в старости.

В целом, отмечено для стволовых клеток при старении: гибель покоящихся стволовых клеток, истощение клона пролиферирующих

стволовых клеток, снижение числа СК в костном мозге, снижение числа СК в крови (рециркулирующих СК, репопулирующих ткани), снижение факторов роста микроокружения; функция самих СК с возрастом меняется, видимо, мало [1].

Таким влиянием на микроокружение СК могут обладать иммуномодулирующие средства, которые обладают, как известно, выраженными геропротекторными свойствами, что объясняется нами в рамках развиваемой новой иммуно-регуляторной теории старения [4, 5]. Особый интерес представляет препарат «Трансфер фактор» (ТФ), для которого показан нами геропротекторный эффект у человека и у старых мышей [2, 3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали количество CD133+ клеток в крови, костном мозге и селезенке от 10 молодых (3 мес) и старых (18 мес) мышей линии BALB/c, самок, полученных из вивария «Столбовая» и содержащихся на стандартном корме в виварии Московского государственного медико-стоматологического университета.

Трансфер фактор вводили мышам, добавляя в питье в расчете на среднюю дозу, рекомендуемую для человека.

Для выделения клеток использовали центрифугирование суспензии ткани или крови в градиенте плотности фиколла 1,090. Для выделения с последующим подсчетом при микроскопировании СК использовали метод магнитосепарции MiniMACS Separation с Indirect CD133 MicroBead Kit (CD133/1 (AC133)-Biotin, Anti-Biotin MicroBeads и FcR Blocking Reagent), по прилагаемому к упаковкам протоколу.

Выделенные клетки микроскопировали, подсчитывали их абсолютное выделенное число от одной мыши, количество их на 1 гр. массы и процент среди общего числа выделенных клеток.

Статистическая обработка проводилась с вычислением средних значений для групп молодых и старых мышей, стандартного отклонения и критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование числа CD133+ клеток в костном мозге, крови и селезенке молодых и старых мышей показало их снижение на периферии при сохранении и даже некотором повышении их числа в костном мозге (Таблица 1, рисунок 2). Отличия были статистически значимы для общего числа выделенных клеток, процента среди выделенных клеток и особенно различались при расчете на грамм массы тела, что понятно, так как мыши растут в течение всей жизни. В то же время, различия не были достоверны для костного мозга, кроме рассчитанных на грамм массы тела.

Замедление биологической регенерации тканей при старении связывают со снижением пула региональных СК. Однако обнаружено, что при уменьшении интенсивности нейрогенеза нейрональные СК сохраняются в зрелом и стареющем мозге млекопитающих и человека и нет существенных различий в свойствах СК у молодых и старых животных [3].

Таблица 1.

Содержание CD133+ клеток в костном мозге и на периферии у молодых и старых мышей.

Молодые	Периферическая кровь	Селезенка	Костный мозг
Тыс. на 1 мышь	47,6±3,5	101,2±15,5	13,3±2,1
% от всех клеток	0,25±0,04	0,17± 0,02	0,42±0,06
Тыс. на 1 гр массы тела	2,7±0,2	5,9±1,1	0,77±0,14
Старые			
Тыс. на 1 мышь	32,7±3,8*	50,9±3,9*	14, 9±2,2
% от всех клеток	0,14±0,02*	0,12±0,01*	0,45±0,09
Тыс. на 1 гр массы тела	1,1±0,1**	1,7±0,1**	0,51±0,10*

* – $P<0,05$, ** – $P<0,01$, *** – $P<0,001$.

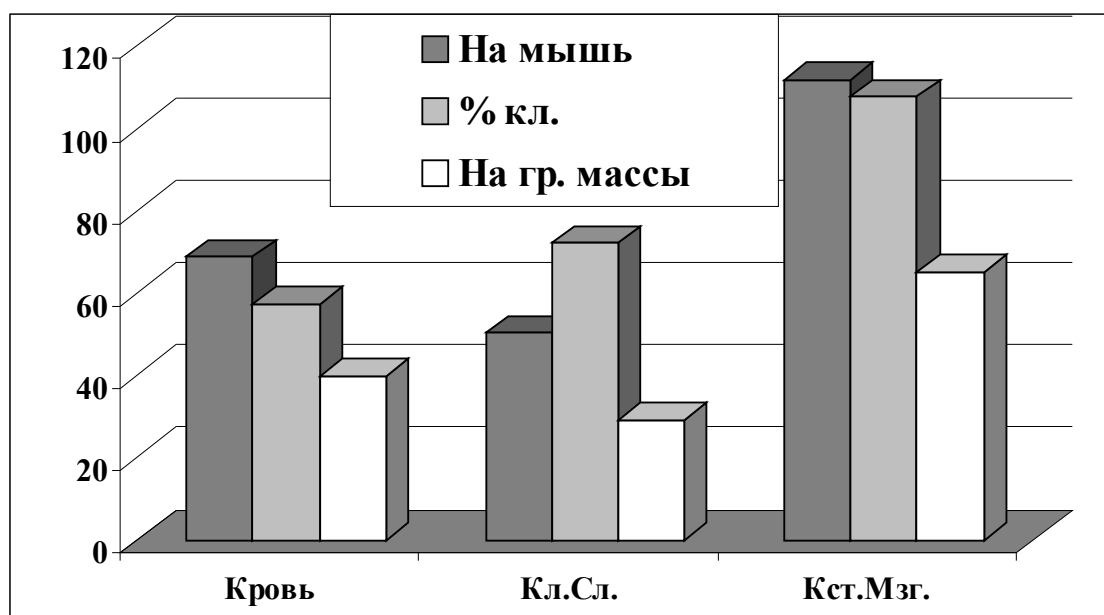


Рисунок 2.

Число CD133+ клеток у молодых и старых мышей

По вертикали – число выделенных клеток в процентах к молодым.

Сами СК костного мозга способны *in vitro* и *in vivo* к самоподдержанию и дифференцировке под влиянием различных факторов в остеобласты, миобласты, хондроциты, адипоциты, гепатоциты, ангиобласты, нейроподобные клетки и др. [2, 3]. При определенных условиях *in vitro* ССК пролиферируют без заметного старения, а *in vivo* имеют ограниченный пролиферативный потенциал [2]. В ответ на повреждения органов СК попадают через кровоток в эти органы, преодолевая практически все барьеры, активно участвуют в процессах обновления тканей и самого костного мозга.

Имеются данные, что число СК у человека уменьшается с возрастом [5]. Так, при рождении в костном мозге содержится 1 СК на 10 тыс СК крови, а к 70 годам – 1 СК на 1 млн СК. Многие результаты, однако, противоречивы и вопрос не может считаться решенным [5].

Старение организма часто связывают с уменьшением числа ССК, старением микроокружения и снижением обновления тканей. Так, СК костного мозга молодых мышей *in vitro* способны активировать гематopoэтические клетки старых животных [5]. При трансплантации мышам нескольких поколений СК от мышей разного возраста не

выявлено возрастных изменений СК, они переживали донорский организм [5]. Интересно, что СК старых доноров также хорошо, как и молодых мышей выполняли (восстанавливали) кроветворную и иммунную функции [5, 7]. Известно, что у человека число клеток периферической крови не уменьшается до 90 лет. При длительном культивировании СК от молодых и старых мышей, а также при пересадке СК в течение трех поколений от доноров разного возраста, не выявлено различий в количестве и функциональной активности СК [7]. Эти факты говорят о том, что сами СК не стареют, а возрастное замедление делений, изменение функций СК и их дифференцировка могут осуществляться под влиянием стареющего микроокружения.

Это микроокружение можно восполнить извне. На таблице 2 и рисунке 3 показан эффект 3-х недельного введения старым мышам препарата Трансфер фактор. Видно, что в большинстве случаев имеет место статистически достоверное повышение числа CD133+ клеток как в костном мозге, так и на периферии.

Таблица 2.

Эффект Трансфер фактора на содержание CD133+ клеток в костном мозге и на периферии у старых мышей

	Кровь	Селезенка	Костный мозг
Старые			
Тыс. на 1 мышь	27,0±3,6	47,4±4,3	13,5±2,1
%	0,18±0,03	0,12±0,01	0,56±0,08
Тыс. на 1 гр массы тела	1,13±0,14	2,00±0,24	0,57±0,09
Старые + ТФ			
Тыс. на 1 мышь	32,7±2,3	71,5±10,2*	18,0±1,9*
%	0,23±0,06	0,16±0,01***	0,78±0,08*
Тыс. на 1 гр массы тела	1,38±0,15*	3,04±0,49*	0,77±0,11*

* – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001.

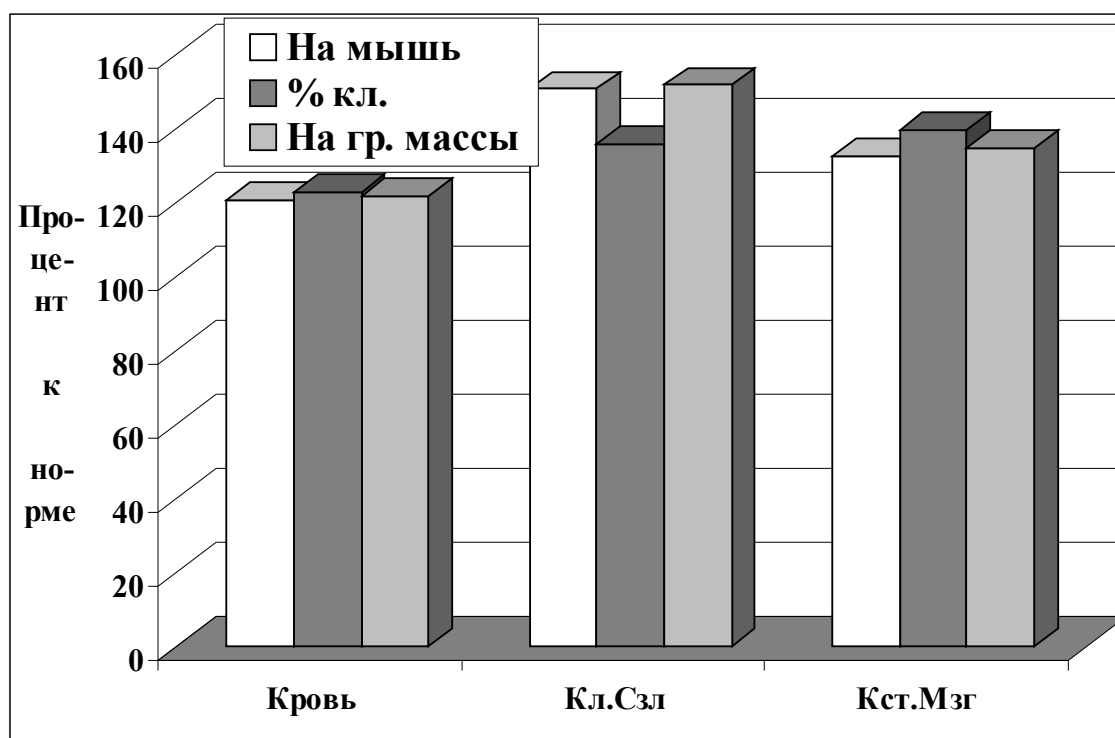


Рисунок 3.

Эффект Трансфер фактора на число CD133+ клеток у старых мышей. По вертикали – число выделенных клеток в процентах к контрольной группе.

Эффекты ТФ на СК могут быть одним из механизмов геропротекторного действия этого препарата, эффект которого на старение старых мышей и человека обнаружен нами ранее и касается многих функций старого организма [2, 3]. Это может быть также одним из механизмов действия иммуностропных средств, эффект которых объясняется нами в рамках новой иммуно-регуляторной теории старения через влияния на скорость самообновления тканей [4, 5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стволовые клетки (СК) обладают высоким пролиферативным потенциалом и их истощение ведет к снижению ауторегенерации тканей, типичной для процесса старения организма. Исследования методом магнитной сепарации с моноклональными антителами против антигена CD133 показали снижение числа CD133+ клеток в крови и селезенке при некотором даже их повышении в костном

мозге, что указывает на механизмы снижения миграции СК на периферию при сохранении их количества.

Таким образом, при старении происходит снижение миграции СК из костного мозга на периферию, но сохраняется потенциал и количество СК, которые, видимо, могут быть активированы факторами микроокружения СК. Трансфер фактор может повышать содержание СК в костном мозге и на периферии при введении старым животным, что может быть одним из механизмов геропротекторного действия этого препарата, обнаруженного нами ранее и касающегося многих функций старого организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Орловская И.А., Дубинина Л.В., Халдосяниди С.К., Козлов В.А.// Онтогенез. 1994. Т.25. С. 26-32.
2. Донцов В.И., Крутько В.Н., Кудашов А.А., Ванюхина М.А., Санталова В.А., Чижов А.Я.//Вестник РУДН Серия «Экология безопасность жизнедеятельности». 2009. № 3. С.104-106.
3. Донцов В.И., Крутько В.Н., Кудашов А.А., Чернилевский В.Е.//Доклады МОИП. Ежегодник. 2009. Т.42. С. 134-140.
4. Донцов В.И., Крутько В.Н. //Успехи современной биологии. 2010. Т.130. №1. С.3-19.
5. Донцов В.И. Новая иммунная теория старения: лимфоциты как регуляторы клеточного роста. Lambert Academic Publishing. 2011. 114 с.
6. Репин В.С.//Успехи физиол.наук. 2001. Т.32, №1. С.3-18.
7. Сухих Г.Т., Малайцев В.В.// Бюл. эксп. биол. и мед. 2001. Т.131, №3. С.244-255.
8. Чернилевский В.Е.//Доклады МОИП. Секция Геронтологии. Сборник статей. М. :МОИП, 2008. С. 82-95.
9. Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я. Клеточные основы кроветворения. М.: Медицина. 1977. 274 с.
10. Chang E.I., Loh S.A., Ceradini D.J. et al. Circulation. 2007. Vol.116. P.2818-2829.
11. Harrison D.E. Do hemopoietic stem cells age?//Cell. ageing. Basel. 1984. P.21-41
12. Thomson J., Gorski A.J., Darzynkiewicz Z. et al.//Science. 1998. Vol.282. P.1145-1147.

ЭФФЕКТЫ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И НЕКОТОРЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НА ПОЗДНИХ СТАДИЯХ СТАРЕНИЯ У МЫШЕЙ

В.И.Донцов, В.Е.Чернилевский

Назначение АФП резко снижало смертность старых животных и способствовало нормализации иммунных функций в старости, видимо, за счет общего улучшения функций тканей и детоксицирующих эффектов АФП, что дает основания рассматривать его как возможное биоактивирующее средство для старых возрастов.

ВВЕДЕНИЕ

Первые сообщения об опыте лечения заболеваний и активации функций старого организма эмбриональными субстанциями относятся к началу прошлого века. Экстракты из эмбриональных тканей применялись для лечения экспериментальных инфицированных ран у крыс, в геронтологической практике и для лечения трофических язв у человека. В настоящее время этот вид терапии составляет целое научно-практическое направление [12]. В последнее время оказалось возможным использование для таких целей эмбрионального белка – альфа-фетопротейна (АФП).

Альфа-фетопротейн известен как белок, вырабатываемый гепатоцитами эмбриона, выполняя прежде всего защитную функцию в системе «мать – плод», он предохраняет эмбрион от развития аутоиммунного конфликта; АФП подавляет экспрессию МНС-II и тем самым препятствует презентации антигенов макрофагами мышей, что является одним из главных механизмов, обеспечивающих иммунологическую толерантность развивающегося плода.

Установлено, что АФП присутствует во всех органах и тканях и в сыворотке крови новорожденных. В норме АФП обнаруживается в сыворотке плода начиная с 4-й недели беременности с пиком на 12-16-й неделях; в возрасте 1 года нормальный уровень АФП в сыворотке такой же, как у взрослых, т. е. менее 15 нг/мл. У взрослых людей АФП был обнаружен при исследовании нормальной печеночной ткани а в фолликулярной жидкости [29]. Так как АФП проникает

через плаценту, он может обнаруживаться в довольно высокой концентрации в сыворотке крови матери на 32-36-й неделях беременности.

По структуре АФП является гликопротеином с молекулярной массой 69 кD, из одной полипептидной цепи в 600 аминокислот и содержит 4% углеводов. Молекула АФП содержит различные функциональные последовательности и сайты связывания [15], что объединяет его с семейством протеинов экстрацеллюлярного матрикса – коллагеном, фибронектином, ламинином, витронектином, тромбоспондином и др.

Регенерация печени ведет к временному, а злокачественные новообразования – к постоянному синтезу гепатоцитов АФП [32]. Регенерация печени у человека сопровождается гораздо более низкими уровнями АФП, чем у мышей, в то же время человеческие гепатоцеллюлярные карциномы носят более злокачественный характер и АФП-положительные встречаются в 2–3 раза чаще. Гепатоциты в культуре, начиная со второго дня, возобновляли активный синтез АФП. Был обнаружен «градиент» синтеза АФП: от АФП-положительных клеток на периферии до АФП-отрицательных в плотном слое клеток в центре чашек, т.е. клеточные контакты подавляли синтез АФП.

Регуляция синтеза АФП осуществляется на генетическом уровне. Регуляторный район гена АФП занимает участок в 7 тысяч пар нуклеотидов с тремя энхансерами, находящимися в отдалении от промотора. Экспрессия гена АФП регулируется на тканевом уровне производными энтодермальных клеток (контактное ингибирование).

Реэкспрессия гена АФП в клетках печени осуществляется при участии ядерного фактора 3 [16], тогда как репрессия гена АФП в печени после рождения осуществляется при участии так называемого регулятора альфа-фетопротейна 1 (Afr1) [27]. Специфические для экспрессии АФП трансфакторы имеются только в печени и желточном мешке – в органах, где АФП синтезируется. Эффективное выключение гена АФП определяется сайленсером – участком гена в начальном районе промотора. В эмбриогенезе и канцерогенезе не

происходит реорганизаций этого гена, регуляция его экспрессии имеет место на транскрипционном уровне. Выше гена АФП обнаружены три регуляторных сайта. Два из них ведут себя как типичные энхансеры, и для их работы требуется присутствие ядерных тканеспецифических факторов. Третий, находящийся в районе промотора, нуждается в репрессоре – специфическом факторе, который выключает транскрипцию гена АФП в зрелом гепатоците. Установлено участие белка р53 в синтезе АФП гепатоцитами и клетками гепатоцеллюлярной карциномы. Белок р53 является репрессором синтеза АФП [15, 19, 25, 28].

В регенерирующей печени мышей начинается синтез АФП зрелыми гепатоцитами. Интересно, что пролиферация клеток печени не является обязательным условием индукции синтеза АФП в этих клетках, вместе с тем пролиферирующие гепатоциты могут не продуцировать АФП. Практически каждый зрелый гепатоцит способен возобновлять экспрессию АФП при наличии достаточных стимулов, например, при гепатэктомии и отравлении четыреххлористым углеродом [1].

Установлено влияние АФП на специфический иммунитет. Так, АФП подавляет выработку антител и созревание цитотоксических Т-лимфоцитов на Т-зависимые антигены, не влияя на активность зрелых Т- и В-лимфоцитов. Основная мишень АФП – пролиферирующие Th [26]. Кроме того, АФП подавляет пролиферативный ответ лимфоцитов на митоген [9], повышает активность специфических Т-супрессоров (Ts) [24, 31], снижает фагоцитирующую способность макрофагов, от внешних условий – может повышать или снижать продукцию ПГЕ₂ в макрофагах что позволяет АФП супрессировать синтез TNF-α активированными моноцитами и IL-1β; АФП также снижает активность NK.

В то время как изучение структуры АФП практически завершено, этого нельзя сказать об изучении биологических свойств. Показано, что АФП является тонким регулятором гомеостаза в физиологических условиях и при развитии патологических процессов: АФП связывает и переносит такие лиганды, как билирубин, жирные кислоты,

стероиды, ретиноиды, флавоноиды, фитоэстрогены, красители, тяжелые металлы, диоксин, а также различные лекарственные препараты [11, 12].

Эффекты АФП реализуются на уровне комплексной регуляции процессов клеточной пролиферации. АФП включает механизмы апоптоза, обеспечение клетки энергетическим и пластическим материалом, индукцию регуляторных сигналов через усиление экспрессию рецепторов и обеспечение синтеза простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов, взаимодействие со структурами экстрацеллюлярного матрикса, иммуномодулирующих эффектов [2, 14, 18, 20, 21, 30]; АФП обладает исключительно высоким сродством к полиненасыщенным жирным кислотам и простагландинам [15], вследствие чего участвует в регуляции синтеза ПГЕ₂.

Экспериментальные исследования свидетельствуют об иммуносупрессорной активности этого белка [1, 13, 14]. В частности, АФП подавляет синтез антител и созревание цитотоксических Т-лимфоцитов [26]; снижает пролиферативный ответ лимфоцитов на митоген [17]; повышает активность специфических Т-супрессоров [24, 31]. Также АТФ снижает активность натуральных киллеров; угнетает фагоцитарную активность макрофагов и уменьшает продукцию активированными моноцитами TNF- α и IL-1. Обнаруженную способность АФП снижать реакции клеточно-опосредованного иммунного ответа *in vitro* успешно использовали для предотвращения развития аутоиммунных процессов у иммунодефицитной линии мышей New-Zeland. Отмечается регулирующая роль альфа-фетопротейна в метаболизме стероидных гормонов; его способность блокировать связывание антител с ацетилхолиновым рецептором и клетками щитовидной железы, что препятствует развитию экспериментального аутоиммунного тиреоидита и *miastenia gravis* [22].

Приведенные данные характеризуют АФП как белок с выраженными иммуносупрессорными свойствами, которые целесообразно использовать на практике.

Мы исследовали возможность оказания геропротективного действия у АФК исходя из разиваемых нами представлений об

иммуно-регуляторной теории старения [3-6] и обнаруженных нами геропрофилактических эффектов у такого типичного иммунологического средства, как Трансфер фактор [8-10].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали 27 старых мышей, самок, в возрасте 1,5 лет, линии BALB/c, полученных из питомника «Столбовая» РАМН и содержащихся в стандартных условиях вивария Московского государственного медико-стоматологического университета им. Евдокимова. Препарат АФК отечественного производства вводили в течение 15 дней ежедневно по 10 мг внутривентрально в 0,5 мл физиологического раствора 12-ти мышам опытной группы.

Исследовали выживаемость мышей в течение опыта в контрольной и опытной группах и ряд показателей, отражающих различные стороны старения.

Внешний вид животных оценивали в баллах (1-4) по состоянию шерсти (лоск, цвет шерсти, степень выпадения волос) и наличию и степени горба.

Общее состояние животных оценивали по числу умываний (опрятность); числу вертикальных стоек при переносе в новую клетку (рефлекс на новое) за фиксированное время; времени удерживания на струне в сек (мышечная сила). Исследовали также массу тела и относительную массу внутренних органов (мг на гр. массы тела).

Иммунный статус оценивали по относительной массе тимуса и селезенки и количеству ауто-антител в сыворотке крови спектрофотометрически по степени поглощения после добавления полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000), выражая в единицах оптической плотности, как ранее описывалось [7].

Состояние тканей оценивали по степени потери массы (на примере почек) в 40% сахарозе вследствие адсорбции внутриклеточной воды, как описывалось [7].

Строили кривые выживания в течение опыта в процентах к исходному числу животных и вычисляли средние значения

параметров и стандартные отклонения для групп контроля и опыта, различия сравнивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемая группа мышей была на поздних стадиях старения: в течение 2-х предыдущих месяцев погибла естественной смертью половина животных.

В течение 15 дней эксперимента естественная гибель животных в контрольной группе составила 46,7%; введение АФП снижало смертность до 16,7% (рисунок 1), то есть, снижение смертности составило 2,8 раза.

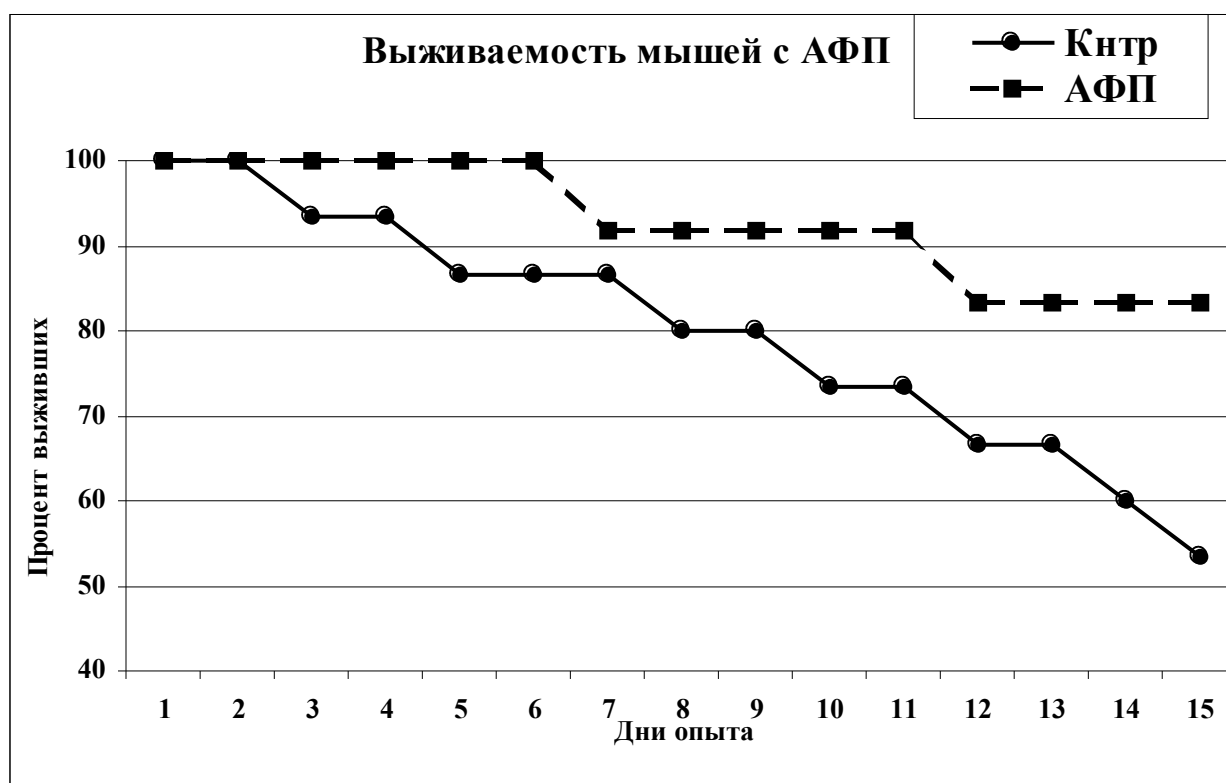


Рисунок 1.

Выживаемость мышей в контроле и при введении альфа-фетопротеина.

Изменение показателей старения у мышей под действием АФП представлено на таблице 1. Видно, что у всех животных, получавших АФП имела явная тенденция к улучшению внешнего вида (статистически значимая для плешивости – в опытной группе потеря шерсти

и плешивые участки были меньше). Аналогично, имелась всюду тенденция к улучшению показателей общего состояния животных (хотя статистическая достоверность не достигала 0,05).

Таблица 1. Влияние АФП на некоторые показатели старения у мышей.

Показатели	Контроль	Опыт	P<
Плешивость (балл)	1,13±0,35	1,30±0,48*	0,05
Цвет (балл)	1,25±0,46	1,30±0,48	н/д
Лоск (балл)	1,25±0,46	1,30±0,48	н/д
Горб (балл)	1,25±0,46	1,40±0,52	н/д
Число умываний	1,38±0,92	1,60±0,97	н/д
Подвижность (квадраты)	3,00±2,00	2,50±1,58	н/д
Число стоек	3,50±2,14	3,00±1,70	н/д
Висение на струне (сек)	57,3±54,2	77,3±48,9*	0,05
Тимус (мг/г)	0,65±0,23	0,76±0,38*	0,05
Селезенка (мг/г)	9,62±1,38	10,76±1,33***	0,001
Сердце(мг/г)	6,30±0,58	6,58±0,51**	0,01
Печень (мг/г)	61,67±4,49	53,70±8,11***	0,001
Почки (мг/г)	7,53±0,66	7,33±0,40	0,05
Внутренняя вода(%)	24,34±1,35	25,03±1,44**	0,01
Ауто-антитела(OD)	0,163±0,030	0,136±0,033***	0,001

* – P<0,05; ** – P<0,05; *** – P<0,05.

Выраженные статистически значимые отличия отмечались для относительной массы внутренних органов – сердца и органов иммунитета (тимус и селезенка). Улучшение функции иммунитета регистрировалось также по снижению продукции ауто-антител. Улучшение состояния тканей отмечалось также по повышению внутриклеточной воды, отражающей, как известно, общее состояние клеток и степень их старения.

В то же время, относительная масса печени и почек статистически значимо снижалась в опытной группе.

Исходя из представлений о функции АФК как

общерегуляторного пептида, вырабатываемого прежде всего в печени и обладающего общим регулирующим и дезинтоксикационным эффектом, можно объяснить общее улучшение состояния тканей, а снижение массы печени и почек трактовать как снижение нагрузки на детоксицирующие органы животных. Этому же способствует снижение ауто-агрессии и повышение массы иммунокомпетентных органов у животных.

Общий биостимулирующий эффект в наибольшей мере проявлялся по резкому повышению выживаемости мышей в течение опыта. Известно, что АФП обладает выраженным благоприятным действием, повышая выживаемость при самых различных заболеваниях, опухолях, химиотерапии и радиоактивном облучении, что достигается частично за счет иммунорегуляторных эффектов АФП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Назначение АФП резко снижало смертность старых животных и способствовало нормализации иммунных функций в старости, видимо, за счет общего улучшения функций тканей и детоксицирующих эффектов АФП, что дает основания рассматривать его как перспективное биоактивирующее средство для старых возрастов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абелев Г. И. 25 лет изучения α -фетопротеина//Онтогенез. 1989. Т.20, № 6. С. 607–615.
2. Волянский Ю. Л., Телепнева Л. Г., Васильев Н. В. Анализ некоторых клинико-иммунологических феноменов с позиций предлагаемой модели антигенраспознающего комплекса Т-хелперов//Усп. совр. биол. 1994. Т.114, вып. 2. С. 225–238.
3. Донцов В.И. Регуляция лимфоцитами клеточной пролиферации - альтернатива теории «противоопухолевого надзора»?// Иммунология. 1989. N. 5. С. 94-96.
4. Донцов В.И. Иммунобиология постнатального развития. М.: Наука. 1990. 152 с.
5. Донцов В.И., Крутько В.Н. Моделирование процессов старения: новая иммуно-регуляторная теория старения//Успехи современной биологии. 2010. Т.130. №1. С.3-19.

6. Донцов В.И. Новая иммунная теория старения: лимфоциты как регуляторы клеточного роста. Lambert Academic Publishing. 2011. 114 с.
7. В.И.Донцов. Экспериментальная геронтология: методы исследования старения. М.:Альтекс. 2011. 432 с.
8. Донцов В.И., Крутько В.Н., Кудашов А.А., Санталова В.А., Чижов А.Я., Ванюхина М.А. Иммуномодуляторы как геропротекторы: герофилактический эффект «Трансфер-фактора»//Вестник РУДН Серия «Экология безопасность жизнедеятельности». 2009. №2. С.57-59.
- 9.Донцов В.И., Крутько В.Н., Зенчук Е.С., Чижов А.Я. Герофилактический эффект трансфер фактора в эксперименте. Технологии живых систем – М.: Изд-во Радиотехника Т. 9 № 5, 2012. – С. 52--57.
10. Крутько В.Н., Гаврилов М.А., Донцов В.И., Мальцева И.В. Эффекты трансфер-фактора на биомаркеры старения в эксперименте и клинике // Вестник Восстановительной медицины. 2012. №3. С. 53-56.
11. Лужков Ю.М. и др. Конъюгаты биологически активных веществ с альфа-фетопротеином, обладающие избирательным действием по отношению к раковым опухолям, способ их получения (варианты) и фармацевтическая композиция на их основе. Патент на изобретение РФ № 2071351 от 10.01.97.
12. Черешнев В. А., Родионов С. Ю., Черкасов В. А., Малютина Н. Н., Орлов О. А. Альфа-фетопротеин. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 376 с.
13. Ширшев С. В. Белки фето-плацентарного комплекса в регуляции иммунных реакций//Усп. совр. биол. 1993. Т.113, вып.2. С.230–246.
14. Шмагель К.В., Черешнев В.А. Альфа-фетопротеин: строение, функции и роль в эмбриогенезе//Акушерство и гинекология. 2002. №5. С.6–8.
15. Copado M. A., Ruiz-Gutierrez V., Rodriguez-Burgos A. Fatty acids and squalene carried by alpha-fetoprotein, and fetal and adult serum albumin from chicken. Comparison with these from mammals//J. Protein. Chem. 1999. Vol.18, № 4. P.413–424.
16. Crowe A. J., Sang L., Li K. K. et al. Hepatocyte nuclear factor 3 relieves chromatin-mediated repression of the alpha-fetoprotein gene//J. Biol. Chem. 1999. Vol.274, № 35. P.25113–25120.
17. Czokalo M., Wishnewski L. Culture conditions modify the effects exerted by human fetal AFP on some lymphocyte functions in vitro//Exp. Pathol. 1981. Vol.20, № 4. P.233–238.
18. Dudich E., Semenkova L., Dudich I. et al. Alpha-fetoprotein causes apoptosis in tumor cells via a pathway independent of CD95, TNFR1 and TNFR2 through activation of caspase-3-like proteases//Eur. J. Biochem. 1999. Vol.266, № 3. P.750–761.
19. Dumble M. L., Knight B., Quail E. A., Yeoh G. C. Hepatoblast-like cells populate the adult p53 knockout mouse liver: evidence for a hyperproliferative maturation-arrested stem cell compartment//Cell Growth Differ. 2001. Vol.12, № 5. P.223–231.

20. Hooper D. C., Cohen B. L., Ducas D. et al. Selective inhibition of murine T-cell proliferation and lymphokine-activated natural killer cell function by AFP//Biological activities of alpha-fetoprotein. 1987. Vol.1. P.153–167.
21. Laborda J., Naval J., Allouche M. et al. Specific uptake of alpha-fetoprotein by malignant human lymphoid cell//Int. J. Cancer. 1987. Vol.40. P.314–8.
22. Matsuura E., Kang Y., Kitakawa H. et al. Modulation of T-cell function by alpha-fetoprotein: an in vivo study on porcine thyroid peroxidase-induced experimental autoimmune thyroiditis in transgenic mice producing human alpha-fetoprotein//Tumour Biol. 1999. Vol.20, № 3. P.162–171.
23. Mizejewski G. J. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants//Exp. Biol. Med. (Maywood). 2001. Vol.226, № 5. P.377–408.
24. Murgita R. A., Goidl E. A., Kontianen S., Wigzell H. Alpha-fetoprotein induces suppressor T-cells in vitro//Nature. 1977. Vol.267, № 5608. P.257–259.
25. Ogden S. K., Lee K. C., Barton M. C. Hepatitis B viral transactivator HBx alleviates p53-mediated repression of alpha-fetoprotein gene expression//J. Biol. Chem. 2000. Vol.275, № 36. P.27806–27814.
26. Peck A. B., Murgita R. A., Wigzell H. Cellular and genetic restrictions in the immunoregulatory activities of AFP. II. AFP-induced suppression of cytotoxic T-lymphocyte development//J. Exp. Med. 1978. Vol. 148, № 2. P. 360–372.
27. Peyton D. K., Huang M. C., Giglia M. A. et al. The alpha-fetoprotein promoter is the target of Ahr1-mediated postnatal repression//Genomics. 2000. Vol 63, № 2. P.173–180.
28. Qiao L., Wu P., Ghaleb A. H., Pizzoli J. G. et al. Bivariate flow cytometric of p53 and DNA content in hepatocellular carcinoma//Anal. Quant. Cytol. Histol. 1994. Vol.16, № 2. P.124–130.
29. Seguchi T., Nakano E., Kameoka H. et al. Correlation of serum basic fetoprotein with acute rejection in kidney transplantation//Clin. Transplant. 1994. Vol.8, № 1. P.30–33.
30. Semenkova L. N., Dudich E. I., Dudich I. V. Induction of apoptosis in human hepatoma cells by alpha-fetoprotein//Tumour Biol. 1997. Vol.18, № 5. P.261–273.
31. Toder V., Blank M., Nebel L. Immunoregulatory mechanisms in pregnancy. 1 Evidence for the alpha-fetoprotein induced generation of suppressor cells in vitro//Transplantation. 1982.
32. Uriel J. Transitory liver antigens and primary hepatoma in man and rat//Pathol. Biol. 1969. Vol.17. P.877–884.

КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЫВОРОТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G К БЕЛКАМ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ IN VITRO ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

А.А.Згурский

В работе впервые установлена возрастная динамика сывороточных антител класса G к белкам культивируемых фибробластов человека. Обнаруженные индивидуальные различия отражают аутоиммунный статус организма человека в отношении клеток его соединительной ткани и с помощью данного метода возможно прогнозировать реакцию пациента на клеточную терапию собственными фибробластами.

Пересадка культивируемых in vitro собственных фибробластов пациента в его кожу методом мезотерапии все шире применяется в косметологии и эстетической медицине для замедления возрастных изменений кожи [2]. После пересадки в местах введения фибробластов в кожу наблюдается локальная гиперемия и отечность, проходящие самостоятельно в течение нескольких часов после процедуры. Однако у некоторых пациентов эти реакции проходят только через несколько дней. Назначение антигистаминных препаратов ускоряет рассасывание в местах введения, что указывает на возможность повышенной чувствительности (аллергии) к собственным фибробластам. В связи с этим, актуальны исследования по выявлению антител к белкам фибробластов в сыворотке крови пациентов. Целью настоящей работы являлось выявление антител класса G в сыворотке крови людей к белкам культивируемых человеческих фибробластов и исследование возрастных изменений уровней и встречаемости этих антител.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выявления антител используются различные методы исследования. Одним из таких методов является иммуноблоттинг, позволяющий не только выявлять сывороточные антитела к отдельным белкам, но и устанавливать молекулярную массу этих белков. В настоящей работе в качестве источника антигенов для

выявления сывороточных антител использованы суммарные белки диплоидных фибробластов человека, культивируемых вне организма.

Доноры крови. Сыворотки крови получали от здоровых доноров в возрасте 20-40 лет (1-я группа) и от практически здоровых лиц 60-90 лет (2-я группа).

Культуры фибробластов. Первичные культуры кожно-мышечных фибробластов получали из абортивного материала и культивировали по стандартной методике [4]. Для исследования использовали культуры 15-25 пассажа после образования сплошного клеточного монослоя (5-7 дней после пересева).

Для получения суммарных клеточных белков культуру клеток промывали сбалансированным солевым раствором и суспендировали в лизирующем буфере (фосфатно-солевой раствор, pH 7,4, содержащий 0,1% додецилсульфат Na, 1% NP-40 и 0,5% дезоксихолат Na). Полученную клеточную суспензию обрабатывали ультразвуком в ультразвуковом дезинтеграторе. Далее полученные лизаты клеток центрифугировали 5 мин при 3000 g, и надосадочную фракцию замораживали при -70° С.

Перед использованием клеточные лизаты размораживали при +37° С и проводили одномерный гель-электрофорез в денатурирующих условиях [7]. Для определения молекулярной массы исследуемых белков использовали набор стандартных белков. Электроперенос белков на нитроцеллюлозные мембраны и твердофазное иммуноферментное определение сывороточных иммуноглобулинов класса G (IgG) к перенесенным белкам осуществляли по методу [3].

Обработка результатов. Результаты обрабатывали с использованием критерия интенсивности иммунопероксидазной реакции. По результатам титрования сывороток на конечное разведение выявлено 5 уровней окрашивания от 1-минимального до 5 - максимального. Средняя интенсивность окрашивания (x) определялась среди подгруппы обследованных, у которых встречались антитела к конкретному белку. Процент встречаемости антител к определенным белкам (%) рассчитывали как отношение числа людей, у которых

обнаруживали антитела к данному белку, к общему числу обследованных данной возрастной группы. Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клеточные лизаты фибробластов содержат очень большое число белков. В одномерном электрофорезе можно разделить только очень ограниченное количество белков. Мы видели более 30 белков и групп белков с молекулярной массой от 12 до 400 кД. Для анализа мы использовали те белки, к которым были обнаружены антитела при разведении сыворотки 1:100 и выше.

Результаты определения антител класса G к белкам фибробластов приведены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика встречаемости и уровня связывания антител к белкам фибробластов

№ белка	Мол.масса белка, кД	1-я группа		2-я группа	
		х	%	х	%
1	16	0	0	2,0	4
2	21	0	0	2,0	4
3	24	1,0	10	2,8	52
4	25	1,0	5	1,9	16
5	26	2,0	3	2,7	17
6	29	1,0	3	1,5	9
7	31	0	0	2,5	4
8	32	1,0	4	2,0	4
9	34	2,0	6	3,5*	6
10	35	2,3	10	2,4	26
11	36	0	0	2,2	16
12	37.	1,3	53	2,0	69
13	38	1,2	60	1,7	41
14	40	2.2	39	2,6	47
15	42	1.8	35	3,3*	19
16	43	1,5	52	1,4	44
17	45	2,0	33	1,5	17
18	48	2,3	93	2,7	83
19	53	2,3	15	1,8	7

20	55	1,6	65	1,4	39
21	59	1,7	58	1,8	42
22	62	1,4	95	2,7*	43
23	66	1,5	13	1,7	35
24	68	1,6	25	1,9	23
25	82	1,8	43	3,7*	6
26	88	1,5	5	2,0	34
27	94	2,0	19	2,4	40
28	100	0	0	2,0	19
29	115	1,7	28	2,4	18
30	120	1,8	30	2,7	26
31	165	0	0	2,1	23
32	220	1,9	85	1,7	65

Из таблицы видно, что присутствие и уровень антител к различным белкам фибробластов сильно варьирует как у молодых, так и среди пожилых людей. Различия связывания антител к индивидуальным белкам между возрастными группами показали большую вариабельность. Однако тенденция к увеличению уровня связывания сывороточных IgG антител при старении проявилась достаточно четко. Из 32 исследованных белков интенсивность связывания антител увеличивалась для 27 белков и уменьшалась для 5 белков. На 6 единиц расширился спектр белков, к которым встречались антитела. Наиболее заметное нарастание уровней связывания антител выявлено в области белков с мол. массой 15-40 кд и выше 60 кд. Вследствие большого индивидуального разброса достоверное повышение уровня антител с возрастом отмечено только для 4 белков с мол. массой 34, 42, 62 и 82 кд. ($p < 0,05$, в таблице отмечены значком * и жирным шрифтом).

Интересно отметить, что для 3 из 4 белков (белки с мол. массой 42, 62 и 82 кд) резкое повышение уровня связывания антител сопровождалось значительным уменьшением встречаемости этих антител в группе пожилых людей. Этот факт может иметь большое значение, поскольку белки 42 и 62 кд по мол.массе совпадают с производными так называемой полосы 3 (белок клеточной мембраны - переносчик анионов), по-другому называемым «антигеном старых

клеток» [5]. Связывание IgG аутоантител с этими белками является важным этапом элиминации старых и поврежденных клеток [6]

ВЫВОДЫ

Увеличение частоты встречаемости аутоантител в крови людей при старении и связанной с возрастом патологии является хорошо установленным фактом [1]. В результате проделанной работы впервые установлена возрастная динамика сывороточных антител класса G к белкам культивируемых фибробластов человека. Можно предположить, что обнаруженные индивидуальные различия отражают аутоиммунный статус организма человека в отношении клеток его соединительной ткани и с помощью данного метода возможно прогнозировать реакцию пациента на клеточную терапию собственными фибробластами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунология и старение. Под редакцией Макинодана Т. М.: Мир. 1980. 273с.
2. Крихели Э.А., Згурский А.А., Терехов С.Н. Применение аутогенных фибробластов в косметологии // Эстетическая медицина. 2004. № 4. С.336-342.
3. Gold D., Ashley R., Handsfield H.H. et al. Immunoblot analysis of the humoral immune response in primary cytomegalovirus infection // J. Infect. Diseases. 1988. Vol.157. No 2. P.319-326.
4. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains // Exp. Cell Res. 1965. Vol.37. N2. P.614-636.
5. Kay M.M. Localization of senescent cell antigen on band 3 // PNAS. 1984. Vol. 81. No.18. P.5753-5757.
6. Kay M.M. Senescent cell differentiation antigen // Prog. Clin. Biol. Res. 1985. Vol.195. P.251-262.
7. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970, Vol. 227. No. 5259. P.680-685.

СОДЕРЖАНИЕ

В.Е. Чернилевский История и деятельность секции геронтологии.....3

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ

В.И.Донцов, В.Н.Крутько, О.В.Захарьяцева, О.А.Мамиконва, Н.С.Потемкина, С.И.Розенблит Старение – общетеоретическое исследование: причина, глобальные механизмы и возможные пути воздействия.....7

В.Н. Крутько, Т.М.Смирнова Новый метод сравнительной оценки структурных особенностей смертности37

А.М. Германский Математическая модель накопления дефектов в ДНК и закономерности смертности людей.....53

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ

М.А.Гаврилов, В.И.Донцов, И.В.Мальцева Флюоресцентные зонды в изучении внутриклеточных изменений при старении: изменения **кислотности** внутриклеточной среды.....70

В.И.Донцов, И.В.Мальцева, В.Е. Чернилевский Флюоресцентные зонды в изучении внутриклеточных изменений при старении: изменения **микровязкости** мембран клеток.....73

В.И.Донцов, В.Н.Крутько, В.Е. Чернилевский Стволовые клетки при старении у мышей и эффект Трансфер фактора.....79

В.И.Донцов, В.Е. Чернилевский Эффекты альфа-фетопротеина на выживаемость и некоторые возрастные показатели на поздних стадиях старения у мышей.....90

КЛИНИЧЕСКАЯ ГЕРОНТОЛОГИЯ

А.А.Згурский Возрастные изменения сывороточных иммуноглобулинов класса g к белкам культивируемых in vitro фибробластов человека.....100

ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

В Докладах МОИП печатаются статьи членов МОИП, преимущественно членов секции Геронтологии. Другие статьи могут печататься по усмотрению редакции и с подачи действительным членом МОИП.

Статьи оформляются согласно стандартным требованиям к научным статьям и подаются в электронном виде по электронному адресу редакции. Статьи подаются в формате Word 98 – 2000 (*.doc), без отступов, с интервалом 1, шрифт Times New Roman 12, размер страницы: 16 * 25 см. Рисунки и таблицы только в этом же виде в самом тексте (ссылки в тексте обязательны: рисунок 1, график 1, только черно-белые). Все объяснения выносятся в подписи к рисунку.

Начало статьи: **НАЗВАНИЕ** (шрифт 12, жирный), **Авторы** (инициалы, фамилия) – шрифт 12, жирный, косой. Аннотация или реферат (шрифт 11, не более 10 строк); Текст статьи: Вступление, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Выводы (Заключение), Литература. Могут быть другие разделы для теоретических статей и т.п.

Ссылки в тексте допускается делать в двух вариантах: 1) номера цитируемых источников в квадратных скобках [1-5, 7] или 2) фамилии авторов и год в квадратных скобках, при наличии более 2-х авторов пишется фамилия первого автора и др., либо et al. [Донцов 2010; Крутько, Смирнова 2012; Донцов и др. 2000; Bucay et al. 1998].

Список литературы по ГОСТу, по алфавиту, вначале отечественные, затем иностранные, нумерация сквозная.

(*Монография*): Беляев Н.М. Соппротивление материалов. М.: Наука. 1976. 608 с.

(*Статья*): Донцов В.И. Регуляция лимфоцитами клеточной пролиферации – альтернатива теории “противоопухолевого надзора”?//Иммунология. 1989, № 5. С. 94-96.

(*Иностранная статья*): Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R. et al. Название статьи//Genes Dev. 1998. Vol. 12. No 5. P.1260-1270.

(*Статья в сборнике*): Крутько В.Н., Донцов В.И., Сердакова К.Г. Старение: системный взгляд//Информатика здоровья и долголетия. Труды ИСА РАН. М.: Мир, 2006. Т.19. С.5-32.

(*Диссертация*): Белоус А.М. Экзогенная рибонуклеиновая кислота – фактор индукции в процессах регенерации костной ткани. Автореф. дис... д-ра биол. наук. Харьков : Харьковск. гос. мед. ин-т. 1989. 31 с.

(*Тезисы*): Донцов В.И. Иммуно-регуляторная теория старения – новые взгляды и новые возможности//Тезисы Межд. конф. «Пожилой больной». 1-3 окт.2008 г. Москва. Клинич. геронтол. 2008. № 9. С.84.

Публикация бесплатная. Авторам – один бесплатный номер сборника.