

5. Rybak M.E.: Interleukine 4: premiers essais de phase I, Actualities therapeutiques Jama H., Mars 1993: 6-8
6. Lenoble M.: Du neutrophile a la cellule dendritique, Actualites therapeutiques, Jama H., Mars 1993: 9
7. Hall. W.A., Fodstad Q: Immunotoxins and central system neoplasia, J. Neurosurg.76: 1-12,1992
8. Rosenberg S.A.: Immunotherapy and gene therapy of ancer, Cancer Res. 51:5074s-5079s, 1991
9. Trayner I.D., Farzaneh F.: Retinoid receptors and acute promyelocytic leukaemia, Eur.J.Cancer 294,14:2054, 1993
10. Berkow R, Beers MH. Cancer and the immune system. In: The Merck Manual of Medical Information. Whitehouse Station, NJ; Merck Research Laboratories. 1997: 792-794.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ**

**Яна Павловски, Дана Павловски**

(Научный руководитель – Элеонора Борш, доцент)  
Кафедра Патофизиологии и клинической патофизиологии

### **Summary**

#### ***Molecular and Physiological Mechanisms of Aging***

The analysis of basic conceptions of the origin of aging were presented in the article. There were exposed contemporary data about molecular, cellular and physiological mechanisms of aging, including the role of DNA damage and repair, of the telomere and telomerase, of the system of the growth hormone – insulin-like growth factor-1 and the development of the age-associated pathologies.

### **Rezumat**

#### ***Mecanisme moleculare și fiziologice de îmbătrânire***

În articolul dat sunt prezentate concepții contemporane referitor la originea îmbătrânirii. Accentul se pune pe elucidarea mecanismelor moleculare, celulare și fiziologice, care relevă îndeosebi rolul leziunilor, reparației ADN-ului, a telomerilor și telomerazelor, precum și al sistemului format din hormonul creșterii și factorul de creștere insulin-like I în procesul îmbătrânirii și dezvoltării patologiilor asociate cu vârsta.

Изучение механизмов старения, продление и улучшение качества жизни является актуальной проблемой современной медицины. Старение — процесс постепенного угасания основных функций организма, в том числе регенерационных и репродуктивных, вследствие чего организм становится менее приспособленным к условиям окружающей среды, что делает неизбежной смерть. Различают физиологическое и патологическое старение.

#### *Молекулярные механизмы старения*

Регуляция экспрессии генов коренным образом влияет на старение и старческие изменения. Наряду с факторами, вызывающими изменения генетического кода, существуют факторы, которые влияют на экспрессию генов и, таким образом, могут играть роль в старении.

Одним из таких факторов является *метилование ДНК* (Catania, Fairweather, 1991; Richardson, 2003). До 5% всех остатков цитозина в ДНК млекопитающих метилировано по 5' позиции с образованием 5-метилцитозина (5мЦ). Метилование происходит в обеих нитях ДНК симметрично, и остатки 5мЦ всегда фланкируются остатками гуанина со стороны 3'-конца. Метилированные остатки цитозина выполняют различные функции, но

что еще более важно, метилирование ДНК вовлечено в регуляцию активности генов. Деметилирование динуклеотидов у позвоночных, связано с изменением уровня транскрипции (Mays-Hoopers, 1989).

Аберрантные участки метилирования ДНК размером до нескольких тысяч пар оснований являются существенным механизмом инактивации генов и часто наблюдаются при раке. Отмечают, что метилирование увеличивается с возрастом линейно, хотя степень его нарастания может варьировать. Метилирование таких генов репарации ДНК, как hMLH1, MGMT и GSTP1, приводят к их инактивации, может способствовать возрастному накоплению мутаций и, возможно, к ускоренному старению и увеличению риска развития рака.

Другим фактором, играющим роль в старении является гликозилирование белков и ДНК. Нуклеиновые кислоты и белки могут быть модифицированы присоединением сахаров к их свободным аминогруппам, что ведет к структурной и функциональной перестройке молекул. Реакция между глюкозой и белками, известна как реакция Мейяра (Maillard). Процесс неферментативного гликозилирования включает несколько этапов: связывание глюкозы со свободными аминогруппами с образованием оснований Шиффа, с последующим их превращением в более стабильные продукты Амадори и затем в конечные продукты глубокого гликозилирования (AGE - *advanced glycosylation endproducts*). Конечные продукты реакции Мейяра труднорастворимы, устойчивы к протеолитическому расщеплению, весьма активны химически и способны образовывать внутримолекулярные сшивки (например, в коллагене), ковалентно связывать белки, которые быстро обновляются (например, ЛПНП, IgG), а также некоторые другие вещества, имеющие свободные аминогруппы (ДНК, некоторые липиды), химически инактивировать окись азота (NO) (Кудинов, 1994).

Была выявлена группа мембранных белков, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов, которые выполняют функцию рецепторов для глубоко гликозилированных молекул. AGE-рецепторы обнаружены на фибробластах, Т-лимфоцитах, в почках (мезангиальные клетки), в стенке сосудов (эндотелий и гладкомышечные клетки), в мозге, а также в печени и селезенке, то есть, в тканях, богатых макрофагами. В макрофагах происходит наиболее интенсивное разрушение продуктов реакции Мейяра, при этом происходят активация эндцитоза и синтез многих регуляторных молекул, в частности инсулинподобного фактора роста (IGF-1) и тромбоцитарного фактора роста (PDGF), являющихся стимуляторами деления фибробластов, гладкомышечных и мезангиальных клеток (Vlassara et al., 1994).

В коллагене у пожилых и больных диабетом было обнаружено увеличение количества связей с глюкозой по сравнению с молодыми и здоровыми людьми (Kohn et al., 1984). Это увеличение количества связей в коллагене, снижающее его эластичность, может являться причиной утолщения базальной мембраны, например в мезангиальном матриксе почек и приводить к почечной недостаточности при диабете, а также быть причиной возрастного снижения функции почек. Полагают, что этот механизм играет роль в сужении артерий, уменьшении сосудистого кровотока и снижении гибкости сухожилий.

Было установлено, что гипергликемия способствует накоплению делеций в митохондриальной ДНК и других мутаций в клетках мышечной оболочки сосудов. При нелеченном диабете с высоким уровнем глюкозы наблюдаются многие признаки ускоренного старения, такие как нарушенное заживление ран, катаракта, повреждения сосудов и капилляров и повышенный риск развития рака (Dilman, 1994).

Одним из нескольких эффективных способов предупреждения старения является снижение калорийности пищи, возможным механизмом влияния такой диеты является снижение концентрации глюкозы в крови и уменьшение неэнзиматического присоединения глюкозы к долгоживущим белкам, например к гемоглобину. Снижение концентрации глюкозы приводит к снижению как гликозилирования белков, так и перекисного окисления липидов. Определяющим негативный эффект гликозилирования

является не собственно присоединение глюкозы к долгоживущим белкам, а происходящее вследствие этого обусловленное свободными радикалами их окислительное повреждение. Нуклеотиды и ДНК также подвергаются неэнзиматическому гликозилированию, что приводит к мутациям из-за прямого повреждения ДНК и инактивации систем репарации ошибок рекомбинации. Это также вызывает повышенную ломкость хромосом.

*Возраст и частота мутаций.* Согласно гипотезе соматических мутаций старение является результатом взаимодействия различных эндогенных и экзогенных повреждающих агентов с генетическим материалом клетки и постепенного накопления случайных мутаций в геноме соматических клеток. Повреждения ядерной и митохондриальной ДНК соматических клеток, такие как точечные мутации, делеции и транслокации, приводят к активации или инактивации специфических генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла и контроль роста.

Накопление с возрастом таких мутаций в различных органах и тканях является основным фактором, определяющим развитие возрастной патологии, включая рак (Bernstein, Bernstein, 1991; Газиев и др., 1994; Vijg, 2000; Vijg, Dolle, 2002).

Одной из причин накопления повреждений ДНК с возрастом может быть снижение эффективности систем ее репарации. Наблюдается положительная корреляция между продолжительностью жизни вида и скоростью репарации ДНК. Другой причиной различий в продолжительности жизни животных разных видов могли бы быть различия в толерантности к молекулярным повреждениям.

*Клеточное старение. Роль теломер и теломеразы в старении.* Выдвинутая в 1971 г. А. М. Оловниковым гипотеза о маргинотомии была подтверждена в 1985 г. открытием теломеразы - фермента, который достраивал укороченную теломеру в половых клетках и клетках опухолей, обеспечивая их бессмертие (Greider, Blackburn, 1985).

Используя регрессионный анализ данных о скорости укорочения теломер в клетках человека из 15 различных тканей и органов, Takubo et al. (2002) установили, что они в среднем укорачиваются на 20-60 пар оснований в год.

Было установлено, что при введении теломеразы в клетки фибробластов человека, которые в норме делятся лишь 50-80 раз, они способны поделиться 280 раз без каких-либо признаков старения и патологии. Тщательное исследование показало отсутствие в этих клетках таких признаков малигнизации, как нестабильность хромосом, независимый от добавления натуральной сыворотки рост, отсутствие контактного торможения и потеря контроля клеточного цикла и, что особенно важно, из них не развиваются опухоли при трансплантации бестимусным мышам (Blasco et al., 1997; Jiang et al., 1999). Видимо, основным свойством теломеразы является контроль клеточного деления, а для возникновения опухолевого роста необходимы дополнительные мутации и факторы.

Была обнаружена существенная обратная корреляция между скоростью укорочения теломер и антиоксидантной активностью некоторых систем в различных линиях фибробластов человека (Saretzki, vonZglinickJ, 2002). Фибробласты с низкой активностью антиоксидантных систем укорачивали свои теломеры быстрее, чем фибробласты с высокой антиоксидантной активностью. В фибробластах человека с низкой активностью этих систем, трансфицированных геном супероксиддисмутазы, замедлялось укорочение теломер, и увеличивалась продолжительность жизни этих клеток в условиях, как в норме, так и при гипероксии. Подчеркивается, что антиоксиданты не только останавливают ускоренное укорочение теломер, вызванное окислительным стрессом, но и увеличивают продолжительность репликативной жизни клеток, замедляя процесс укорочения теломер (von Zglinicki, 2002). Предполагается, что укорочение теломер *in vivo* при некоторых заболеваниях, например сосудистой деменции, атеросклерозе или апластической анемии, может быть обусловлено окислительным стрессом, играющим важную роль в их патогенезе. Возможно, что укорочение теломер является не только счетчиком клеточных делений, но и мутационного процесса, поскольку короткие теломеры запускают старение в ответ на окислительный стресс и нерепарированные мутации. По образному выражению

T. von Zglinicki (2002), теломеры действуют как "сторожа" клеток и при повреждении генома удаляют "опасные" клетки из пула пролиферирующих клеток.

При делении клетки в отсутствие теломеразы недореплицируется примерно 40-100 тысяч пар оснований. По мере деления нормальной клетки человека ее теломеры укорачиваются настолько, что они запускают остановку клеточного цикла, приводя клетку в терминальное неделяющееся состояние, названное первоначально "клеточным старением". Однако в настоящее время получены доказательства, свидетельствующие в пользу того, что клетка может переходить в это "старое" состояние вне зависимости от того, вовлечено в данный процесс укорочение теломер или нет (Hornsby, 2002).

Другой часто используемый термин - "репликативное старение" - более определенно связан с клеточным старением, обусловленным укорочением теломер (обозначается также как M1). При репликативном старении дальнейшее деление клетки блокируется такими ингибиторами клеточной пролиферации, как p21SDH/WAF/CIP1 и p16INK4A. В тех случаях, когда репликативное старение прерывается онкобелком, например антигеном SV40 T, клетки ускользают из этого состояния и переходят в другое, называемое кризисом, или M2. В этом состоянии самые короткие теломеры подвергаются слиянию конец-в-конец и циклам разрывов и слияний хромосом, которые переводят клетки в состояние апоптоза и к гибели значительной части клеток, не наблюдающейся при репликативном старении (M1).

Следует подчеркнуть, что клеточное старение является универсальным процессом, развивающимся как реакция клеток млекопитающих в ответ на повреждения определенного типа, включающие укорочение теломер.

*Система гормон роста - инсулинподобный фактор роста-1 (GH-IGF-1): роль в старении и долголетию.*

Одной из наиболее "горячих точек" в современной геронтологии является вопрос о роли возрастных изменений в системе *гормон роста-инсулинподобный фактор роста-1* в механизме старения (Sonntag et al., 1999).

Гормон роста, соматостатин и IGF-1 находятся в гомеостатических отношениях, регулируемых по принципу обратной связи.

С возрастом ночной пик секреции гормона роста снижается как у человека, так и у лабораторных грызунов, сопровождаясь также и снижением концентрации IGF-1 в плазме крови. Полагают, что возрастное снижение секреции гормона роста обусловлено снижением ответа гипофиза на действие GHRH, продукция которого, в свою очередь также уменьшается. Однако имеются убедительные доказательства, свидетельствующие о том, что возрастное увеличение тонической продукции соматостатина также является важным фактором в снижении секреции гормона роста при старении (Sonntag et al., 1999). Кроме того, чувствительность нейронов гипоталамуса, продуцирующих GHRH, к гомеостатическому действию гормона роста также снижается с возрастом. Следует заметить, что старение гипоталамуса затрагивает и такой важный регуляторный механизм, как контроль потребления пищи, то есть центры аппетита и насыщения, находящиеся в гомеостатических отношениях с другими компонентами системы регуляции энергии в организме (Дильман, 1987).

Важным звеном в возрастных нарушениях функции этой системы является уменьшение индуцируемой гормоном роста продукции IGF-1, что может быть дополнительным условием, определяющим низкий уровень этого фактора в плазме крови и тканях в старческом возрасте. У старых крыс отмечено двукратное увеличение концентрации рецепторов к гормону роста в тканях, что, однако, не компенсирует возрастное снижение секреции этого гормона. У человека и у лабораторных животных с возрастом нарушается передача сигнала с рецептора гормона роста, приводящее к снижению секреции IGF-1 (Sonntag et al., 1999).

Было показано, что в механизме возрастного нарушения передачи сигнала гормона роста определенную роль играет увеличение обновления рецептора гормона роста, а также точечные мутации, посттрансляционные модификации рецепторного белка и увеличение активности фосфатазы фосфотирозина (Sonntag et al., 1999).

В целом же возрастное снижение уровня IGF-1 в плазме крови может быть важным фактором в снижении пролиферативной активности тканей и соответственно в развитии ряда ассоциированных с возрастом патологических процессов. Следует отметить, что, поскольку как гормон роста, так и IGF-1 стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток сосудистой стенки, образование трубок и ангиогенез в целом, снижение их продукции с возрастом является существенным фактором развивающейся при старении сосудистой недостаточности.

Одним из важных свойств гормона роста и IGF-1 является их влияние на функцию головного мозга. Оба гормона стимулируют синтез ДНК, РНК и белков в мозге, образование нейритов, пролиферацию олигодендроцитов и выживание нейронов и глии *in vitro*, усиливают образование синапсов в мышцах и способствуют репарации нервной ткани. IGF-1 участвует в регуляции кальция в мозге и экспрессии онкогена *c-fos*. Введение гормона роста в условиях эксперимента увеличивало концентрацию IGF-1 в головном мозге и защищало нейроны от гибели в условиях ишемии, что свидетельствует о его способности преодолевать гематоэнцефалический барьер (Sonntag et al., 1999). Имеются убедительные доказательства избирательной стимуляции введением IGF-1 утилизации глюкозы в мозге старых крыс, а также нейротропного действия IGF-1. Так, введение его в желудочки головного мозга старых животных увеличивало утилизацию глюкозы и активность глутамата в областях мозга, связанных со способностью к обучению и памятью.

Несмотря на то, что введение гормона роста и IGF-1 старым животным оказывало ряд благоприятных эффектов, в частности стимулировало внутриклеточный синтез белка, когнитивные функции, толщину кожи, массу костей, иммунную функцию и рост сосудов у животных и человека, длительное их применение может представить большую опасность для организма, стимулируя развитие неопластического процесса. У человека высокий уровень IGF-1 в крови является фактором риска для рака молочной железы, рака легких и предстательной железы, тогда как снижение его может быть важным в профилактике возрастной патологии (Sonntag et al., 1999). Вместе с тем при снижении уровня гормона роста или IGF-1 у человека, как это имеет место, например, при синдроме Ларона, наблюдаются уменьшение продолжительности жизни, массы мышечной и костной ткани, увеличение содержания жира в теле, гипертония, поведенческие проблемы, резистентность к инсулину и ранний атеросклероз (Longo, Finch, 2003). Увеличение смертности, которое наблюдается при дефиците гормона роста у пациентов с гипопитуитаризмом, сопровождается также отсутствием продукции АКГГ.

Важно отметить, что, несмотря на то, что результаты экспериментов на грызунах однозначно свидетельствуют о том, что гормон роста и IGF-1 являются промоторами старения и ассоциированных с возрастом заболеваний, инъекции гормона роста широко рекомендуются как средство антистарения. Короткие курсы терапии гормоном роста отмечали улучшение состояния и ряд положительных сдвигов в организме, тогда как длительное применение препарата, приводило у грызунов к увеличению частоты рака и почечной патологии, а у человека сопровождалось развитием акромегалии, рака и сердечно-сосудистых заболеваний. Даже краткосрочное введение гормона роста практически здоровым пожилым пациентам приводило к развитию у них сахарного диабета, различных патологий и повышенной смертности.

Следовательно, длительное введение гормона роста, значительное повышение его и IGF-1 уровня в крови может способствовать увеличению заболеваемости и смертности.

### **Библиография**

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения Изд. Наука, 2003, Санкт-Петербург. 52-63, 76-84, 111-115 с.
2. Дильман В.М. Четыре модели медицины. М.:Медицина, 1987. 288с.
3. Кудинов Ю. Г. Патологические последствия накопления конечных продуктов неферментативного гликозилирования при старении // Пробл. старения и долголетия. 1994. Т. 4. С. 434—451.
4. Catania J., Fainveather D. S. DNA methylation, and cellular aging // Mutat. Res. 1991. Vol. 256. P. 283—293.
5. Longo V.D., Finch C.E. Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? // Science. 2003. Vol.299. P. 1342-1346
6. Mays-Hoopers L.L. Development, aging, and DNA methylation // Int. Rev. Cytol.1989. Vol.114. P.118-220
7. Richardson B. Impact of aging on DNA methylation // Ageing Res. Rev. 2003. Vol. 2. P. 245—261.
8. Sonntag et al. pleiotropic effects of growth hormone and insulin-like growth factor on biological aging: inferences from moderate caloric-restricted animals// J.Gerontol. Biol. Sci. 1999. Vol. 54A. P. B521- B538.
9. Takubo et al. Telomere length are characteristic in each human individual // Exp. Gerontol.