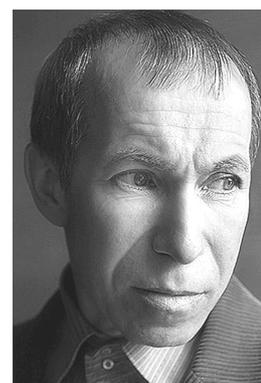


Три возраста жизни. Художник Джорджоне. 1505–1510. Фрагмент.

УДК 616.89-008.441.13



Мушкамбаров Н.Н.

Старение: природа и механизмы

Мушкамбаров Николай Николаевич, доктор биологических наук, профессор, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова

E-mail: mushkambarov@gmail.com

Статья посвящена проблеме вклада спонтанных факторов и генотипа (генотипа вообще и генетической программы в частности) в определение продолжительности жизни.

Ключевые слова: старение, геном, ген, близнецы, метилирование ДНК, апоптоз, импринтинг, белки сиртуины.

Определения и вариативность понятий

Под термином «происхождение старения» естественно полагать причину и время появления старения как феномена в эволюции, что, по существу, теснейшим образом связано с проблемой всеобщности старения. По данному вопросу имеются две основные версии: (1) по Ф.Энгельсу, будучи неотъемлемым свойством всех форм жизни, старение появилось **одновременно** с возникновением жизни на Земле; (2) по А.Вейсману, старение появилось лишь **на некоей стадии** эволюции (и поэтому имеется не у всех видов).

Природа же старения – это наиболее общая причина данного процесса у того или иного вида (тогда как происхождение старения относится к эволюции в целом). Здесь тоже существуют две основные версии:

– старение – **спонтанный** (стохастический) процесс, происходящий под действием факторов внешней и внутренней среды организма;

– старение – **запрограммированный** процесс, т.е. развивается в соответствии с программой, заложенной в геноме данного вида организмов.

Сразу заметим: говоря о факторах, которые могли бы вызывать спонтанное старение, в принципе, следует иметь в виду не только повреждающие агенты. Вспомогательную или даже основную роль, возможно, играют другие факторы – например, некий закон природы. И так далее. Но тут мы вторгаемся в сферу вероятных **механизмов** старения, о которых речь будет немного позже. Поэтому пока остановимся в рассмотрении этого вопроса и продолжим обсуждение более общего понятия – **природы** старения.

В первую очередь, это понятие (точнее, связанные с ним дискуссии) позволяют дать точное определение одному чисто человеческому феномену.

В литературе взгляды на природу старения порой подразделяют на оптимистические и пессимистические. Правда, тут, как и в геронтологии вообще, нет никакой ясности. Так, оптимистическим вариантом одни считают **запрограммированность** старения (значит, можно вмешаться в программу или вообще удалить её – и жить долго-долго). А у кого-то это вариант **спонтанности** (значит, можно усилить «работу» со всеми поломками – по линии предупреждения и по линии исправления, – и тоже жить долго-долго).

Кстати, по поводу миражей. Непримиимо жёсткое подразделение природы старения на два независимых варианта нередко создаёт иллюзию жёсткой связи этих вариантов с версиями происхождения старения:

ЕСЛИ СТАРЕНИЕ – ВСЕОБЩИЙ ПРОЦЕСС → ТО ОНО НЕ ЗАПРОГРАММИРОВАНО,
ЕСЛИ СТАРЕНИЕ – НЕ ВСЕОБЩИЙ ПРОЦЕСС → ТО ОНО ЗАПРОГРАММИРОВАНО.

Действительно, если старение – всеобщее свойство, то оно появилось независимо от эволюции и, значит, обусловлено не генетической программой, а действием стохастических факторов. Это первое заключение. Если же, в соответствии с Вейсманом, старение – исключительно продукт эволюции (т.е. не всеобщий феномен), тогда исходим из того: всё появившееся в эволюции, очевидно, запрограммировано. Это второе заключение.

Однако подобной связи может и не быть. Например, если даже на первых этапах эволюции старение было чисто стохастическим, то впоследствии ничего не мешало эволюции подсоединить сюда и генетическую программу. Т.е. программой мог быть подкреплён и всеобщий процесс.

Относительно второго заключения представим ситуацию: у особей некоего вида – очень эффективная система защиты и регенерации, со 100%-ной эффективностью защищающая организм от старения, а у особей других видов – менее эффективная, – и они стареют; причём, без специальной программы. Получается, что старение – не универсально, но там, где оно происходит, оно не запрограммировано. В итоге, однозначно прогнозируемой связи между происхождением и природой старения нет. И, например, если в старении обнаружена генетическая программная **компонента**, это никак не решает вопроса о его происхождении.

Варианты природы старения.

Сочетание случайного и запрограммированного в старении

Слово «компонента» употреблено только что не случайно. Действительно, можно представить и то, что старение каких-то или даже многих живых объектов по своей природе амбивалентно: в его развитии имеют значение и факторы **спонтанного** старения, и специальная **генетическая программа**. Тогда, вместе с нулевым, получается 4 основных варианта природы старения.

0 – нулевой вариант (вариант “zero”), т.е. **старения фактически не происходит**: защитные системы полностью нейтрализуют действие «стохастики», а генетической программы старения нет.

I – чисто спонтанный вариант: нейтрализация факторов спонтанного старения с самого начала онтогенеза или начиная лишь с какой-то его стадии не является полной, генетической программы старения по-прежнему нет.

II – комбинированный (амбивалентный) программно-спонтанный вариант: нейтрализация факторов спонтанного старения опять не является полной, т.е. старение происходило бы и без программы, но оно ускоряется и становится управляемым специальной программой, включающейся на одной из стадий онтогенеза.

Подвариант: программа включается лишь при значительном отклонении организма от нормы в результате старения или болезни и обеспечивает быстрое его самоуничтожение.

III – исключительно запрограммированный вариант: на первых стадиях онтогенеза, как и в нулевом варианте, защитные системы полностью нейтрализуют действие «стохастики», а с какой-то стадии включается генетическая программа, становящаяся единственной причиной старения. Причём и в этом, и в предыдущем случае одним из возможных механизмов действия программы может быть управляемое снижение эффективности защитных систем организма.

В итоге все варианты (включая последний) содержат как явный или скрытый элемент **факторы спонтанного старения**. При этом пара крайних вариантов воплощает собой «вейсманизм» в чистой форме: одни виды не стареют (вариант 0), другие стареют строго по программе (вариант III). Два промежуточных варианта вполне лежат в русле концепции Энгельса о неотвратимости старения.

Именно с позиций этих промежуточных вариантов трактуется природа старения в нашем определении: **возрастные изменения возникают под влиянием внешних и внутренних факторов спонтанного старения, эффективность действия которых определяется генетическим статусом организма, в т.ч., возможно, специальной генетической программой**. Как видно, под генетическими факторами здесь понимается не только специальная **программа завершения онтогенеза** (имеющаяся, видимо, далеко не у всех), но и общий **генетический статус** (т.е. геном) организма.

Рассмотрим роль этих факторов подробнее: возможные способы программирования старения, а также влияние генома и спонтанных факторов на продолжительность жизни.

Механизмы старения

Обратимся к третьему, «младшему» компоненту триады «происхождение, природа и механизмы старения». Механизмы старения – это конкретные способы реализации природы старения. Причём данная реализация вначале происходит на уровне молекул и органелл, а лишь потом – на более высоких уровнях. Попробуем представить и перечислить возможные механизмы спонтанного и запрограммированного старения.

I. Спонтанное старение. Среди нижеперечисленных кандидатов в механизмы спонтанного старения первый и третий в той или иной мере нам уже известны. Первый механизм – повреждающее действие внутренних и внешних стохастических факторов, среди которых – активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА), электромагнитное и радиоактивное облучение, локальные всплески энергии и т.д.

Недалеко отстоит и даже перекрывается с предыдущим второй возможный механизм – т.н. изнашивание клеток и межклеточного вещества. Это – совокупность микроповреждений клеток в процессе собственного функционирования (что характерно именно для изнашивания) и (или) действия стохастических факторов.

Разделить эти факторы не всегда возможно. Так, например, можно представить, что в ходе нормального функционирования неких структур одновременно происходит напряжение и поломка какого-то количества этих структур, а также образование АФК, АФА и других эндогенных стохастических факторов, которые усиливают прямое негативное влияние самого функционирования на клеточные структуры.

Заметим: мысль об **изнашивании** организма – вероятно, первое, что ещё с древнегреческой поры приходило в голову каждому, кто задумывался о причине старения. Действительно, любой мог наблюдать это на примере собственной одежды (туники, тоги и т.д.) – со временем ткань местами истончается, ветшает и, в конце концов, в ней образуются дыры. Да и превращение цветущих молодых людей в дряхлых немощных стариков (если таковое успевало случиться) тоже наводило на сходную мысль.

Третий механизм – расходование некоего потенциала, определяющего жизнеспособность особей. Это может быть какая-либо ограниченная (лимитированная) величина: термодинамическая – энтропия, энергия Гиббса и т.п., цитологическая – например, количество делений, генетическая – длина теломера; критическое количество мутаций и других повреждений генома, в расчёте на соматическую клетку, и т.д.; телеологическая – жизненная энергия (неизвестно где сосредоточенная) и т.п. В ряде случаев и здесь возможна (или даже необходима) комбинация разных механизмов. Например, если всё дело – в лимите на повреждения генома, то, ясное дело, в общий механизм старения особи входят и всевозможные способы появления этих повреждений.

И ещё один, выдвигаемый ещё с пятидесятых годов XX века, механизм – самопроизвольная дисрегуляция (**разрегулирование**) сложных биохимических и физиологических процессов – например, вследствие ослабления гормонального контроля, накопления неисправленных ошибок в ходе матричных синтезов и пр.

2. Запрограммированное старение. Здесь встаёт вопрос, что конкретно может быть запрограммировано в тех случаях, когда старение идёт под «диктовку» некоей записанной в геноме программы? И на этот вопрос нетрудно дать несколько вариантов ответа (опять-таки допустимы и комбинации этих вариантов – друг с другом или с предыдущими): (а) в частности, как уже отмечалось, может быть запрограммировано постепенное снижение эффективности защитных систем клеток и организма (системы репарации ДНК, антиоксидантной системы, белков теплового шока, иммунной системы); (б) постепенное отключение любой защитной системы позволяет «развернуться» стохастическим факторам старения.

Другие варианты программы старения:

– постепенное снижение порога внутренних повреждений клетки, запускающих клеточное «самоубийство» – апоптоз,

– образование неких факторов, угнетающих жизнедеятельность постмитотических структур и деления митотических клеток;

– изменение гормонального статуса – такое, что ведёт к развитию типичных болезней пожилого возраста (атеросклерозу, диабету, онкогенезу) и их осложнений (инфаркту, инсульту и т.д.).

Обратим внимание на то, что, по крайней мере, в первых двух вариантах программы предусматривается одновременное действие **спонтанных** механизмов старения, и без них программа не имела бы смысла.

Облигатность и факультативность применительно к происхождению, природе и механизмам старения

При обсуждении различных аспектов старения порой используются термины «**облигатный**» (обязательный, постоянный) и «**факультативный**» (непостоянный, необязательный). И здесь возможны определённые недоразумения. Дело в том, что эти термины могут быть применены, во-первых, к разным характеристикам старения – происхождению, природе и механизмам, а в пределах каждой из них – в двух разных «плоскостях»: «пространственной», характеризующей распределение признака по объектам (видам, особям), и «временной», характеризующей постоянство присутствия признака у объекта. Многообразие всех смыслов, в которых, в связи со старением, могут быть использованы термины «облигатный» и «факультативный», сведено в таблице 1.

В качестве комментария заметим лишь следующее. В то время, как в случае **происхождения** старения

Таблица 1.

Облигатное и факультативное в старении

	Распределение признака по видам или по особям	Постоянство признака во времени
1. Происхождение старения	а) Старение свойственно всем существующим ныне видам (облигатно), либо не всем видам (факультативно)	а) Старение имелось в эволюции на всём её протяжении, т.е. и у вымерших видов (облигатно), либо не всегда, а только на каких-то этапах (факультативно)
	б) У тех видов, у которых старение есть, оно присуще каждой особи каждого поколения (облигатно)	
2. Природа старения	а) Спонтанная компонента старения	
	присутствует у всех видов (облигатна)	действует у каждой особи в течение всего онтогенеза (т.е. облигатна всё время)
	б) Программа старения	
	у многих видов, вероятно, отсутствует (факультативна), но там, где есть, включается у каждой особи (облигатна)	(если имеется) включается лишь с определённой стадии онтогенеза (т.е. только с этого момента облигатна)
3. Механизмы старения	а) Стохастические факторы старения действуют	
	на все особи (облигатно)	у каждой особи – постоянно (облигатно)
	б) Изменение гормонального статуса	
	может происходить не у всех особей вида (факультативно)	(если происходит) может начинаться в разные периоды онтогенеза (факультативно)

облигатность и факультативность **взаимоисключают** друг друга (представляя собой непримиримые концепции Энгельса и Вейсмана), в отношении **природы** старения облигатная (спонтанная) и факультативная (программная) компоненты старения могут вполне мирно **сосуществовать**. Последнее относится и к облигатным и факультативным **механизмам** старения.

Речь, однако, идёт о том, какова (в самом общем плане) **роль генетических и спонтанных факторов в процессе старения**. Так, в частности, для II-го и III-го вариантов старения мы коротко перечислили наиболее очевидные способы генетического программирования этого процесса. Теперь обратимся к другим и, пожалуй, более важным, аспектам указанной проблемы.

Влияние генома и спонтанных факторов на продолжительность жизни

Даже в отношении I-го варианта старения (не предусматривающего программу) можно утверждать, что и здесь геном оказывает определяющее влияние на скорость старения и итоговый параметр – продолжительность жизни. Подобное **внепрограммное** влияние генома на ключевые параметры жизни имеет место также при других вариантах старения (II и III), поскольку и программа старения, если таковая имеется, тоже функционирует не в индифферентной среде, а в организме, возможности которого строго заданы геномом. Естественно, воздействуют на многие параметры жизни и старения и спонтанные факторы, однако спектр их воздействия несколько уже.

Рассмотрим характер этих влияний более подробно применительно к **продолжительности жизни**. Вообще говоря, продолжительность жизни (ПЖ) – это интегральный показатель сочетанного влияния многих факторов:

- видового состава генома (т.е. всей содержащейся в нём генетической информации),
- индивидуальных особенностей этого состава,
- условий жизни, в т.ч. всевозможных спонтанных воздействий (как «острых», так и «хронических»).

Для дальнейшей конкретизации разговора важно определиться, о какой именно ПЖ в том или ином случае идёт речь. Будем различать следующие показатели:

- ПЖ_j – продолжительность ещё **не завершённой** жизни **особи** на момент t_j ;
- ПЖ_о – **общую** (т.е. до момента смерти) продолжительность жизни **особи**;
- ср-ПЖ_о – **среднюю видовую** общую продолжительность жизни;
- max-ПЖ_о – **максимальную видовую** продолжительность жизни;
- ~max-ПЖ_о – **ожидаемую** максимально возможную продолжительность жизни **особи**.

С определением двух последних показателей связаны некоторые проблемы: значения max-ПЖ_о нередко приводятся в литературе, но есть мнение, что данное понятие вообще не имеет права на существование¹; представление же о, казалось бы, столь естественном понятии, как ~max-ПЖ_о, и вовсе отсутствует в литературе. С точки зрения автора, эти проблемы вполне преодолимы.

Да, действительно, приводимая во многих публикациях оценка максимальной ПЖ_о для какого-нибудь вида, как правило, возвышается неестественно острым пиком среди множества индивидуальных значений ПЖ_о особей данного вида. Всё дело в том, что под max-ПЖ_о обычно понимают некое рекордное значение ПЖ_о, достигнутое **единственной** особью-долгожителем. И отличие этого рекорда от среднего уровня бывает столь велико, что становится совершенно неясно, чего же здесь больше – реальности или фантазии. А если реальности, то не в какой-нибудь ли мутации дело?

¹ Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни. М. Наука, 1991. 280 с.

Во избежание подобных сомнений, с моей точки зрения, в качестве $\max\text{-ПЖ}_0$ должна была бы выступать более серьёзная оценка – среднее значение, скажем, 10 наивысших (за **вычетом максимального!**) результатов ПЖ_0 особей данного **вида**, существовавших в наиболее благоприятных условиях и в них же умерших.

В литературе встречается сходное, но более радикальное, предложение: определять $\max\text{-ПЖ}_0$ как среднее от таких значений ПЖ_0 , которые составляют 10 процентов всех известных значений ПЖ_0 и являются самыми высокими в этом множестве.

Разницу между способами оценки $\max\text{-ПЖ}_0$ можно показать на примере. Допустим, в популяции из 652 ровесников ПЖ_0 распределилась следующим образом:

ПЖ_0 , лет	51	52	53	54.....	73	74	75	76	77	78.....	97	98	99	100	115	130
n (чел.)	1	2	3	4	23	24	25	25	24	23.....	4	3	2	1	1	1

Три подхода (в том порядке, как они излагались) дают для этой популяции три разных значения $\max\text{-ПЖ}_0$: **130** лет, **100,8** года и **94,2** года. Второе из них (определённое по 10 наивысшим результатам, не считая максимального) кажется автору наиболее адекватным.

Второй «проблемный» показатель, $\sim\max\text{-ПЖ}_0$, находится в тесной связи с предыдущим. Это та ожидаемая **максимально возможная продолжительность жизни**, которая может быть достигнута новорождённой **особью** при существовании на всех стадиях онтогенеза (начиная с зиготы) **в наиболее благоприятных условиях**. Ориентировочной оценкой данного параметра, очевидно, может служить уточнённое значение $\max\text{-ПЖ}_0$ – величина, рассчитанная по 10 наивысшим (после максимального) индивидуальным значениям ПЖ_0 . Хотя, конечно, даже в самых оптимальных условиях ПЖ_0 различных особей какого-либо вида, в связи с внутривидовой вариабельностью генома, вряд ли является одной и той же для всех величиной. Поэтому оценка $\sim\max\text{-ПЖ}_0$ по $\max\text{-ПЖ}_0$ может содержать ту или иную погрешность. Так что в идеале – это оценивать $\sim\max\text{-ПЖ}_0$ новорождённой особи на основании некоего генетического анализа. Однако вряд ли в настоящее время это уже возможно.

Тем не менее, общий смысл введённых показателей вполне ясен, и это позволяет сформулировать более точно те прежние утверждения, которые мы собирались рассмотреть: $\sim\max\text{-ПЖ}_0$, т.е. исходный жизненный потенциал той или иной конкретной особи, зависит только от генома; на реальное значение ПЖ_0 той же особи оказывают влияние всевозможные спонтанные факторы.

Роль генома в определении $\sim\max\text{-ПЖ}_0$

Поясняя первое утверждение, следует начать с того, что и при «наиболее благоприятных условиях» (необходимых для реализации $\sim\max\text{-ПЖ}_0$) в той или иной мере продолжаете воздействовать на организм **вредных факторов** – внешних и особенно внутренних. Действительно, никакие условия не могут полностью предотвратить **образование активных форм кислорода и свободных радикалов, спонтанные мутации, ошибки репликации хромосом, неудачные деления, апоптоз невосполнимых клеток** и т.д.

Устойчивость организма ко всем названным и подобным явлениям определяется его **геномом**:

- во-первых, **через «конструкцию»** всех «узлов» (частей, систем) организма, через их прочность, надёжность работы и взаимодействия,
- во-вторых, через **активность разнообразных защитных механизмов**,
- в-третьих, через **устойчивость самого генома** в клетках организма, которая, правда, в значительной мере зависит от всего предыдущего.

Но для стареющих видов устойчивость и генома, и прочих структур организма не является абсолютной даже в «наиболее благоприятных условиях». Только скорость накопления неисправленных повреждений сводится к некоторому неустраняемому минимуму. Так что всё равно продолжается более или менее постепенное «скольжение» организма вниз – к старости и смерти. Образно говоря, биосистема (организм) даёт неустраняемую «утечку жизни» даже в оптимальных условиях, а при других условиях «утечка» становится только интенсивней.

При старении по варианту I роль генома в этом процессе состоит лишь в вышесказанном – более или менее эффективном (но всегда – неполноценном) **противодействии разрушению** себя самого в клетках организма и организма в целом. При старении же по варианту II с некоторой стадии онтогенеза вектор влияния генома на состояние организма может плавно или круто **развернуться** и начать действовать в противоположном направлении – т.е. не замедлять, а, напротив, резко ускорять процессы старения. В качестве иллюстрации можно привести хорошо известные примеры запрограммированной смерти (классический пример – лососи после нереста), а также гипотетические ситуации, когда продолжающееся функционирование генов, необходимых для развития, начинает оказывать отрицательное воздействие на организм.

При старении по гипотетическому варианту III дело обстоит, в принципе, так же, только до «разворота» геномного «вектора» геном успешно противодействует деструктивным процессам – и старения, по определению, не происходит.

В итоге, для старения по любому варианту можно констатировать: при оптимальных условиях существования особей, когда активность спонтанных факторов старения сведена к минимуму возможного, скорость старения, естественно, тоже минимальна, продолжительность жизни, соответственно, максимальна, конкретное значение этой величины ($\sim\max\text{-ПЖ}_0$) для любой особи **определяется геномом** и, в зависимости от индивидуальных особенностей последнего, может быть различным.

Причём в этих – наиболее благоприятных – обстоятельствах от генома (от конструкции кодируемого им организма и активности его защитных систем) в первую очередь зависит скорость **неустраняемой «утечки» жизненного потенциала**. Данная скорость при III-м варианте старения (до включения соответствующей программы) принимает предельно низкое – нулевое – значение, а при более реальных вариантах I и II – определёнno от-

лична от нуля, причём её значения имеют как видовые, так и индивидуальные особенности.

Для вариантов старения II и III, кроме того, геном «прописывает» время включения программы старения и интенсивность её действия. Функцией этих показателей и является $\sim \max\text{-ПЖ}_0$. Но, в конечном счёте, данная величина (максимально возможная продолжительность жизни особи) зависит исключительно от генома.

Роль спонтанных факторов и генома в определении ПЖ

В действительности же ПЖ₀ особи обычно меньше $\sim \max\text{-ПЖ}_0$. Причиной служит *избыточная активность* спонтанных вредных факторов (по сравнению с оптимальными условиями), которая повышает скорость «утечки» жизненного потенциала, т.е. скорость старения. Вообще говоря, используя терминологию табл. 1.1, спонтанные факторы можно разделить на три группы:

А. облигатные постоянные – действуют всегда и с практически постоянной интенсивностью (с некоторыми оговорками, это сила гравитации; стремление системы, в соответствии со вторым началом термодинамики, к потере энергии и снижению порядка организации и т.д.);

Б. облигатные переменные – действуют всегда, но с переменной интенсивностью (примеры: магнитное поле Земли, космическое излучение, активные формы кислорода и азота, свободные радикалы, локальные флуктуации энергии и т.д.)

В. факультативные (временные) – появляются лишь при определённых обстоятельствах (примеры: радиоактивное облучение, травмы, болезни, голод, психические стрессы и т.д.).

Следовательно, в наиболее благоприятных условиях организм находится под ударами факторов первой и второй групп (при этом первые действуют со своей обычной интенсивностью, а вторые – с минимальной). В прочих условиях повышается интенсивность факторов второй группы и (или) присоединяются факультативные факторы. Соответственно, в этих «прочих» условиях в той или иной степени сокращается ПЖ₀. Наиболее наглядно это продемонстрировано в исследованиях однойцовых и двуяйцовых близнецов. У первых геномы одинаковы, и поэтому различие в ПЖ₀ целиком обусловлено условиями жизни. Особенно показательными считаются шведские близнецы, которые часто воспитываются в разных семьях. Правда, весьма сомнительно, что шведские семьи способны отразить всё многообразие условий жизни. Гораздо полезней для науки было бы сылать одного из близнецов куда-нибудь в Африку, а ещё вернее – к нам в Россию. У двуяйцовых близнецов различие в ПЖ₀ обусловлено уже не только внешними, но и генетическими особенностями. В итоге в одном из исследований обнаружено, что среднее отличие ПЖ₀ у однойцовых близнецов – 14,4 года, а у двуяйцовых – 18,7 лет¹.

Первый результат демонстрирует, что даже в Скандинавии не всё в порядке с равными условиями жизни: при совершенно одинаковом геноме один однойцовый близнец может прожить дольше другого свыше, чем на 14 лет. И это только в среднем! Вторым результатом (в сравнении с первым) характеризует, по мнению авторов, вклад генетических различий в $\Delta\text{ПЖ}_0$: он составляет всего $(18,7 - 14,4) / 18,7 \approx 23\%$.

Но, конечно, всё вовсе не так! Во-первых, и двуяйцовые близнецы – не чужие друг другу, отчего их многие гены представлены одинаковыми аллелями. А это занижает оценку вклада генотипа в вариабельность ПЖ₀. Во-вторых, исходные оценки вклада спонтанных факторов (14,4 лет) и суммарного вклада «спонтанного» и «генетического» компонентов (18,7 лет) тоже заведомо занижены – независимо от того, о каких близнецах идёт речь. В самом деле, ПЖ₀ того близнеца, который прожил дольше, тоже в общем случае меньше максимальной ПЖ₀ ($\sim \max\text{ПЖ}_0$), поскольку и этот близнец мог жить не в самых идеальных условиях. Поэтому за верхнюю точку сравнения ПЖ₀ практически всякий раз использовали явно заниженную величину. Эти погрешности приводят к сильному искажению результатов. Влияние второй погрешности продемонстрируем следующим численным примером.

Всё содержание примера сведено в таблицу 2. Для простоты принято, что для каждого вида близнецов (однойцовых и двуяйцовых) в расчёт достаточно взять лишь по две их пары – с наибольшей и с наименьшей разницей продолжительности жизни (ПЖ₀). Т.е. для любого параметра среднее его значение по этим двум парам считается близким к истинному среднему. И проведён простой численный эксперимент. Вначале более-менее произвольно выбраны значения $\sim \max\text{-ПЖ}_0$ (те пределы ПЖ₀, которые могли быть достигнуты в идеальных условиях жизни), одинаковые для однойцовых и различные для двуяйцовых близнецов, а также значения реальной ПЖ₀. Затем по этим данным получены обычные (как в описанных экспериментах) и «действительные» (в рамках введённых параметров) оценки влияния спонтанных и генетических факторов на ПЖ₀.

Опуская промежуточные результаты, представленные в таблицах А и Б, обратим внимание на конечный итог. Средняя разница значений ПЖ₀ в парах близнецов в нашем примере – практически такая же, как в реальности: 15 и 20 лет, соответственно, для одно- и двуяйцовых пар (ср. с вышеприведёнными цифрами – 14,4 и 18,7 лет). И если ориентироваться на неё, вклад генотипа в вариацию ПЖ₀ составляет $(20 - 15) / 20 = 25\%$.

Если же отталкиваться от значений $\sim \max\text{-ПЖ}_0$, характеризующих исходное состояние генома, то получим две другие цифры (см. табл.2 Б): 17,5 и 38,25 лет, из которых первая отражает вклад генотипа, а вторая – общий вклад «спонтанного» и «генетического». Тогда по этим данным следует, что вклад генотипа в вариацию ПЖ₀ – $17,5 / 38,25 \approx 44\%$. Это почти вдвое больше оценки, сделанной первым способом, – когда не использовались значения $\sim \max\text{-ПЖ}_0$.

Заметим, что, по другим источникам², относительный **средний вклад генотипа в индивидуальные вариации ПЖ₀** людей находится в интервале от 30 до 50%. Результат нашего примера удачно «вписывается» в этот интервал. Конечно, это получилось не само собой: результат создан искусственно путём подбора нужных вводных

¹ Лэмб М. Биология старения. М.: Мир, 1980. 206 с.

² См., напр.: Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г.И.Марчука, В.Н.Анисимова, А.А.Романюхи, А.И.Яшина. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 535 с.

данных. Но нельзя не видеть, что все эти данные вполне **реалистичны**. Кроме того, они достаточно согласованы – и с экспериментальными данными по тем же близнецам (что уже отмечалось), и между собой (вклад «спонтанного»: по табл. А – 20 лет, из табл. Б – 20,75 лет), и, как только что сказано, с литературными данными по вкладу генотипа.

Таблица 2.

Моделирование различий ПЖ₀ у близнецов

А. Однояйцовые близнецы

	Пусть максимально возможные (~max-ПЖ ₀) и реальные значения ПЖ ₀ близнецов таковы:			Тогда оценкой роли спонтанных факторов считают разность:	Истинное же влияние спонтанных факторов на ПЖ ₀ – иное:	
	~max-ПЖ ₀	ПЖ _{0,1}	ПЖ _{0,2}	ПЖ _{0,1} – ПЖ _{0,2}	~max ПЖ ₀ – ПЖ _{0,1}	~max ПЖ ₀ – ПЖ _{0,2}
Пара близнецов с максимальной разностью ПЖ ₀	110 лет	100 лет	75 лет	25 лет	10 лет	35 лет
Пара близнецов с минимальной разностью ПЖ ₀	100 лет	85 лет	80 лет	5 лет	15 лет	20 лет
СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ				15 лет	20 лет	

Б. Двухъяйцовые близнецы

	Пусть максимально возможные и реальные значения ПЖ ₀ таковы:				Тогда суммарное влияние генотипа и спонтанных факторов			Влияние же только генотипа таково:
	у одного близнеца		у другого близнеца		оценивается по разности	в действительности таково:		
	~max-ПЖ _{0,1}	ПЖ _{0,1}	~max-ПЖ _{0,2}	ПЖ _{0,2}	ПЖ _{0,1} – ПЖ _{0,2}	~max-ПЖ _{0,1} – ПЖ _{0,1}	~max-ПЖ _{0,2} – ПЖ _{0,2}	~max-ПЖ _{0,1} – ~max-ПЖ _{0,2}
Пара близнецов с максимальной разностью ПЖ ₀	110 лет	85 лет	90 лет	50 лет	35 лет	25 лет	40 лет	20 лет
Пара близнецов с минимальной разностью ПЖ ₀	120 лет	75 лет	105 лет	70 лет	5 лет	45 лет	35 лет	15 лет
СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ					20 лет	38,25 лет		17,5 лет

И это свойство введённых параметров заставляет относиться со вниманием к тому, что из них вытекает. А вытекает следующее: оценка вкладов «спонтанного» и «генетического» в вариабельность ПЖ₀, основанная лишь на сравнении ПЖ₀ в парах близнецов (без учёта ~max-ПЖ₀), ведёт к сильному искажению результатов и выводов. Реальное же значение обсуждаемого показателя (среднего вклада генотипа в вариации ПЖ₀), видимо, и в самом деле близко к полученной в примере оценке. Остальные 55–65% – это средний вклад спонтанных факторов в вариабельность ПЖ₀.

Таким образом, как бы ни считать, всё равно ясно: спонтанные, незапрограммированные факторы могут очень существенно модифицировать – точнее, безжалостно сокращать – продолжительность жизни особи. Однако и генетическая природа особи – ключевой «игрок» в этом соревновании жизни и смерти: от неё в решающей степени зависит и предел ПЖ₀ (~max-ПЖ₀), который может быть достигнут особью вида при минимально возможном действии спонтанных факторов, и степень сопротивления организма при более интенсивном действии этих факторов. Поэтому и **средневидовая** продолжительность жизни особей (ср-ПЖ₀) в относительно постоянных условиях тоже в значительной мере определяется геномом: это ~max-ПЖ₀, умноженная на некий коэффициент, меньший 1. Стоит отметить и полезную роль такой абстракции, как максимально возможная продолжительность жизни особи (~max-ПЖ₀).

Гены, определяющие продолжительность жизни. «Гены старения»

Конечно, хотелось бы знать конкретно, какие гены и как влияют на ПЖ₀. Первая мысль, появляющаяся вслед за таким желанием, состоит в том, что, пожалуй, на ПЖ₀ влияют все гены, и выключение любого из них сократит какую-то функцию, а с ней – и жизнеспособность организма. Но, оказывается, не всё столь однозначно. Мало того, что эффекты выключения или (мягче) модификации генов различны по **величине**, – они могут порой различаться даже по своей **направленности**.

Последнее означает, что есть гены, **выключение** или элиминация (удаление) которых **приводит к увели-**

чению ПЖ₀! Выходит, их функционирование в организме уменьшает ПЖ₀! Поэтому их назвали «генами старения» и даже «генами смерти». Эта информация тоже наводит на определённые мысли, и две первые из них таковы. Совсем первая (а фактически уже вторая) мысль: значит, всё-таки старение **запрограммировано**, апологеты Вейсмана могут торжествовать! (Хотя, как я не раз подчёркивал, и концепция Энгельса совместима с идеей о наличии программы старения). Следующая мысль – дерзкая, полная прекрасного оптимизма: так, получается, эти гены – фактически игла Коцея Бессмертного! Надо лишь «спрятать» понадежней «гены смерти» – в смысле, полностью выключить их, – и можно жить долго и счастливо.

Первое впечатление часто бывает наиболее верным. В то же время, первые впечатления, как известно, обманчивы. Из этих двух справедливых (хотя и прямо противоположных) утверждений в данном случае верно последнее – обманчивы обе мысли.

Так, чаще всего «гены старения» кодируют какой-либо белковый компонент той или иной сигнальной системы. Вообще говоря, в последнее время обнаружено большое количество внутриклеточных многокомпонентных сигнальных систем¹. В наиболее простом варианте такие системы включают:

- поверхностный мембранный **рецептор**,
- связанный с ним непосредственно или через специальный механизм фермент синтеза (**аденилатциклаза, гуанилатциклаза**) либо распада (**фосфодиэстераза**) циклического нуклеотида (**цАМФ, цГМФ**), находящийся на внутренней поверхности плазмолеммы или в цитоплазме,
- регулируемые этими нуклеотидами специфические ферменты фосфорилирования (**протеинкиназы**) и дефосфорилирования (**протеинфосфатазы**) определённых белков, в т.ч. ферментов,
- ну и, конечно, сами эти **белки** (чаще всего – **ферменты**) – конечный объект регуляции.

С помощью таких цепочек многие химические регуляторы (гормоны, медиаторы и пр.), не проникая внутрь клетки, оказывают необходимое влияние на внутриклеточные процессы.

Зачастую сигнальные пути организованы более сложно и к тому же имеют «точки пересечения», образуя единую сбалансированную регуляторную сеть, влияющую на активность сразу многих белков. Ещё сложнее сигнальные пути, которые влияют не на **активность**, а на **синтез** белков. Такие пути включают и внутриядерные компоненты, в том числе т.н. **транскрипционные факторы**, определяющие активность подконтрольных генов.

Вот к белкам всевозможных сигнальных (регуляторных) путей и относятся обычно продукты «генов старения» – генов, которые, как мы сейчас выясним, носят такое название совершенно несправедливо.

Наиболее детально изучено влияние генов (точнее, их модификации) на ПЖ₀ у дрожжей, нематод (круглых червей), мушек-дрозофил и лабораторных мышей². На основании обширного материала, приведённого в работе «Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины», составлена таблица 3, в которой для каждого из 4-х видов организмов отобрано по 3 наиболее впечатляющих примера. Примеры демонстрируют, как меняются ПЖ₀ и общее состояние мутантов с тем или иным модифицированным геном.

Прежде всего, видно, что в подавляющем большинстве случаев продукты генов, чьё выключение повышает ПЖ₀, действительно, входят в какую-либо регуляторную цепь: это

- мембранные **рецепторы** к гормонам (инсулину и его аналогу – ИПФР, к СТГ),
- **аденилатциклаза**, на которую часто передаются сигналы с рецепторов,
- **протеинкиназы**, активируемые циклическим АМФ (или цГМФ) и сами влияющие на активность соответствующих белков (в том числе иногда – транскрипционных факторов),
- **транскрипционные факторы**, влияющие на активность определённых генов – в том числе тех, от которых зависит синтез гормонов.

Причём сигналы, проходящие с участием этих белков, вовсе не направлены непосредственно на инициацию старения или гибели клетки. В самом деле, трудно назвать таковыми сигналами, сообщающие о количестве энергетических субстратов в среде обитания клетки и в её митохондриях, сигналы, стимулирующие (прямо или через образование гормонов) развитие личинки, рост и репродуктивную способность организма, либо все нервные сигналы. Трудно ассоциировать всё это с мрачными терминами «гены старения» и «гены смерти». Последние здесь явно не подходят. Поэтому **принадлежность рассмотренных генов к некоей программе старения более чем сомнительна**. А если определённой – то просто невозможна.

Почему всё-таки при выключении ряда генов возрастает ПЖ₀? Дело в том, что в эволюционном отборе побеждали не те организмы, которые дольше жили, а те, которые успешней размножались, т.е. эффективней сохраняли и приумножали свою ДНК. И подчас для достижения лучшего общего результата было целесообразно пожертвовать некоторым «количеством жизни». Так, из табл. 3 мы видим, что многие мутанты с выключенным или ослабленным мутацией геном, хотя и живут дольше обычного, но живут не вполне благополучно: они зачастую отличаются карликовыми размерами и низкой способностью к размножению. Ясно, что в соперничестве с «натуралами» в естественной среде такие «долгожители» не имеют никаких шансов. К тому же «долгожителями» они являются в комфортных условиях вивария или лаборатории. А проявили бы они такую же живучесть в природе, даже в отсутствие конкурентов-«натуралов», – это ещё очень большой вопрос.

В итоге было вполне закономерным закрепление в эволюции таких генов, которые (через различные регуляторные цепочки) обеспечивали более быстрое и более совершенное развитие энергичного плодовитого организма – вместо крошечного существа с сомнительной способностью жить долго, но вяло и бесплодно. И этот выбор, повторяю, не имел никакого отношения к созданию генетической программы старения. А искусственная «отмена» данного выбора (путём инактивации соответствующих генов) вряд ли может использоваться как способ продления жизни.

¹ См., напр.: Мушкхамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. 2-е издание. М. «МИА», 2007. 540 с

² См.: Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины...

Видимо, сходная ситуация – с мутантами дрожжей, указанными в табл. 3. Мутации касаются генов, ответ- Таблица 3.

Примеры генов, модификация которых ведёт к увеличению ПЖ₀

Вид организмов	Название гена	Продукт гена и его функция	Модификация гена	Прирост ПЖ ₀ , %	Состояние мутантов
Дрожжи	<i>SCH9</i>	ПК* сигнальной цепи, передающей информацию о питательной среде.	Делеция	200	Увеличивается резистентность к недостатку в среде питательных веществ.
Дрожжи	<i>CYR1</i>	АЦ* – фермент образования цАМФ в сигнальной цепи, тоже информирующей о внешней среде	Мутация?	90	Увеличивается резистентность к неблагоприятным факторам среды
Дрожжи	<i>RTG3</i>	Транскрипционный фактор в сигнальной цепи, информирующей ядро о состоянии митохондрий.	Выключение гена	55	Особенно сильно (на 120%) ПЖ ₀ возрастает при низкой конц. глюкозы.
Нематоды	<i>daf-2</i>	Рецептор к ИПФР* – начальное звено сигнальной цепи, стимулирующей развитие личинки	Выключение гена	500	Личинки развиваются гораздо медленней, потомства образуется меньше.
Нематоды	<i>unc-32</i>	Субъединица АТФазы синаптических пузырьков, участвующих в передаче нервного сигнала	Выключение гена	170	ПЖ ₀ возрастает только у самцов. Отсутствует координация движений.
Нематоды	<i>osm-5</i>	Фактор, регулирующий развитие личинки	Выключение гена	150	Развитие личинки замедляется.
Дрозофилы	<i>InR</i>	Рецептор к инсулину и ИПФР* – аналог белка DAF-2 у нематод	Мутация	85	ПЖ ₀ увеличена у гетерозиготных по гену <i>InR</i> карликовых самок.
Дрозофилы	<i>Msr A</i>	MSRA* – фермент, репарирующий белки с окисленными радикалами Met*	Повышенная экспрессия	70	Дольше сохраняются физическая активность и репродуктивность
Дрозофилы	<i>dDnmt2</i>	ДНК-метилаза: метилируя ДНК, необходима для нормального развития и последующей жизни.	Повышенная экспрессия	58	Видимо, то же, что в предыдущем случае
Мыши	<i>Prop1</i>	Часть (гомеодомен) транскрипционного фактора, необходимого для развития передней доли гипофиза.	Точечная рецессивная мутация	68	Гомеодомен плохо связывается с ДНК. Нарушен синтез СТГ*, ЛТГ*, ТТГ*. Мыши – карлики и бесплодны.
Мыши	<i>GHR</i>	Рецептор к СТГ*	Модификация гена	46	Снижена чувствительность к СТГ. Карликовость
Мыши	<i>Pit1</i>	Ещё один фактор транскрипции, необходимый для развития передней доли гипофиза	Рецессивная мутация	42	Гомозиготные мутанты – карлики

* Примечания: ПК – протеинкиназа, АЦ – аденилатциклаза, ИПФР (IGF) – инсулиноподобный фактор роста, MSRA – метионинсульфоксидредуктаза А, Met – метионин, СТГ – соматотропный гормон (гормон роста), ЛТГ – лютеотропный гормон (пролактин), ТТГ – тиреотропный гормон.

ственных за передачу информации о состоянии ресурсов во внешней среде и в митохондриях. Надо думать, при критически низком содержании этих ресурсов в нормальных клетках запускается процесс апоптоза (самоубийства), что защищает популяцию от появления в ней в условиях голодания дефектных клеток. А в мутантных клетках, где сигнальные пути выключены, сильное ухудшение состояния клеток не приводит к апоптозу. Формально устойчивость клеток к голоданию и к другим неблагоприятным факторам повышается. Клетки превращаются в «скелеты», но живут. Вопрос только в том, во благо ли это клеткам и популяции в целом.

«Гены жизни»

В табл. 3 помимо 10 генов, несправедливо заклеянных как «гены старения», представлены и 2 гена, которых вполне справедливо было бы назвать «генами жизни». Их особенность в том, что к увеличению ПЖ₀ ведёт не инактивация гена, а его **повышенная экспрессия**, т.е. повышенное содержание в клетках продукта данного гена.

Вполне естественно, что один из таких генов кодирует фермент, осуществляющий **репарацию белков**, у которых под влиянием тех или иных агентов оказалась окисленной сера метионина. (Напомним: огромное множество самых разнообразных белков состоит всего из 20 видов аминокислот; к их числу относятся и две

серусодержащие аминокислоты – метионин и цистеин). О природе агентов, являющихся опасными внутриклеточными окислителями, мы говорили в п. 1.3.2.2: это, в первую очередь, АФК и АФА – активные формы, соответственно, кислорода и азота. Тогда речь шла об их влиянии на ДНК; теперь следует добавить, что объектом атаки могут быть и другие компоненты клеток – в частности, белки и липиды. И, подобно системе репарации ДНК, существуют ферменты, восстанавливающие структуру повреждённых белков. Это, например, широко известные *шапероны* (или белки теплового шока), а также менее известный фермент MSRA, ген которого и попал в табл. 3, проявив себя в качестве «гена жизни».

А как обстоит дело в том же плане с другими защитными системами? Здесь стоит упомянуть факт¹, касающийся антиоксидантной системы, т.е. системы, нейтрализующей АФК. Конкретно речь идёт о каталазе – ферменте, разрушающем пероксид водорода. Факт состоит в следующем: трансгенные мыши, митохондрии которых содержат каталазу человека, – вполне нормальны по всем параметрам, но живут, в среднем, на 20% дольше обычного. Конечно, это не бог весть что, но всё-таки показательно: видимо, ферменты антиоксидантной системы человека более активны, чем такие же ферменты мышшей, и этим отчасти (ну, конечно, только отчасти!) объясняется различие **средневидовой** продолжительности жизни (ср-ПЖ₀) человека и мышшей.

Второй содержащийся в табл.3 «ген жизни» кодирует ДНК-метилазу (теперь чаще используют более точный термин: «**ДНК-метилтрансфераза**».) Данный фермент (а существует несколько его разновидностей) вводит метильные группы в определённые азотистые основания ДНК; это может происходить как вскоре после репликации (в этом случае речь идёт о новой цепи ДНК), так и независимо от репликации (тогда могут метилироваться обе цепи ДНК). Вероятные функции этого процесса представляются весьма интересными и разнообразными. И они имеют сразу несколько и порой неожиданных точек соприкосновения с проблемой старения. Поэтому, воспользовавшись случаем, я остановлюсь на этом феномене подробнее. Но надо иметь в виду: несмотря на долгую историю изучения метилирования ДНК, где незаметной песчинкой мелькнула когда-то и диссертация автора этих строк², многое остаётся ещё очень туманным.

В качестве первой иллюстрации можно привести следующий факт. До последнего времени считалось, что у дрозофил (и всех беспозвоночных) никакого метилирования ДНК нет. А между тем в табл. 3 в качестве «гена жизни» фигурирует ген ДНК-метилазы именно дрозофил.

Метилирование ДНК как проявление «гена (или генов) жизни»

У бактерий ДНК-метилаза является сайт-специфической, т.е. метилирует в ДНК сайт (последовательность из 4–8 нуклеотидных пар) лишь одного определённого вида, и это защищает свою ДНК от разрыва по этому сайту настроенной на него же сайт-специфической нуклеазой – т.н. рестриктазой. А проникающая в бактерию чужеродная (например, фаговая) ДНК не прометилирована по копиям этого сайта (такие копии найдутся в любой ДНК) и расщепляется рестриктазой на фрагменты. Эта пара ферментов (ДНК-метилаза и рестриктаза) с одинаковой сайт-специфичностью называется **системой модификации и рестрикции**.

Модификацию, понятно, представляет собой метилирование ДНК. А слово «рестрикция» происходит от англ. **restriction – ограничение** и означает, что фермент рестриктаза ограничивает возможности чужеродной ДНК сохраниться в клетке.

Не только каждый вид, но и каждый штамм одного вида бактерий отличается от всех прочих по сайт-специфичности своей системы модификации и рестрикции. Заметим, что рестриктазы оказались очень удобным инструментом для генноинженерных манипуляций; с их открытия генная инженерия, собственно, и началась.

Также считается, что и у бактерий, и у эукариот особый тип метилирования участвует в исправлении ошибок репликации ДНК³. При репликации метильные группы содержатся вначале только в старых цепях ДНК, и это позволяет специальной ферментной системе, обнаружившей «неправильную» нуклеотидную пару, определить, какая из цепей является новой. Тогда участок этой цепи вырезается и синтезируется заново, для чего старая цепь во второй раз используется в качестве матрицы.

Кроме того, у эукариот метилирование ДНК происходит в области промоторов некоторых генов (промоторы – участки ДНК, с которыми связываются ферментные комплексы для считывания расположенного следом гена). Причём обычно это приводит тем или иным способом к **инактивации гена**⁴. В сперматозоиде, где гены неактивны, уровень метилирования ДНК наиболее высок.

В то же время, по другим данным⁵, дело обстоит прямо противоположным образом: уровень метилирования имеет **положительную корреляцию** с функциональной активностью клеток и органов. Он наиболее высок в активно функционирующих органах – в головном мозгу и печени, а в первом – в коре больших полушарий и мозжечка. **При старении** ДНК-метилазная активность и содержание в ДНК метилированных азотистых оснований (в данном случае – 5-метилцитозина, или 5-МЦ) **снижаются**. Причём падение содержания 5-МЦ – одно из наиболее типичных возрастных изменений ДНК. Данный факт описан для разных органов старых млекопитающих, культуры делящихся фибробластов, в которой происходит т.н. репликативное старение, драматически быстрой инволюции органов у лососевых рыб после нереста – в тканях катастрофически резко падает содержание 5-МЦ в ДНК.

Такое впечатление, что речь идёт о совершенно разных процессах. И что современные авторы, увлечённые

¹ Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины... С. 19.

² Мушкамбаров Н.Н. Изучение метилирования ДНК в животных тканях. Дисс. ... канд.биол.н. М.: 1-й ММИ им. И.М. Сеченова, 1978. 132 с.

³ Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Указ. соч.

⁴ Прохорчук А.В., Рузов А.С. Метилирование генома и его роль в функционировании эукариотического организма // Генетика. 2000. Т. 36. № 11.

⁵ Ванюшин Б.Ф., Бердышев Г.Д. Молекулярно-генетические механизмы старения. М.: Медицина, 1977. 322 с.

ролью метилирования ДНК в импринтинге генов, где метилирование оказывает на гены ингибирующее воздействие, не желают ничего знать об обширной сумме фактов иного свойства. Между тем, видимо, и в самом деле у эукариот (впрочем, как у бактерий) имеется несколько типов метилирования ДНК (что, нескромно говоря, автор утверждал ещё в упомянутой диссертации-песчинке) – с разными ферментами, свойствами и функциями.

С одним из типов метилирования ДНК сопряжено любопытное, только что упомянутое, явление – **импринтинг генов** (англ. **imprinting**, буквально – **запечатление**). Трудно сказать, имеет ли отношение этот тип метилирования ДНК к увеличению ПЖ, дрозофил при повышенной экспрессии их ДНК-метиلاзы (см. табл. 3). Но он имеет непосредственное отношение к гаметогенезу и, возможно, даже к мейозу. И этого более чем достаточно, чтобы нам проявить интерес к данному феномену.

Импринтинг генов как одна из функций метилирования ДНК

Суть импринтинга генов состоит в том, что некоторое, по-видимому, небольшое количество генов (несколько десятков из всех 50–70 тысяч генов человека) сохраняет память о том, из какого генома они произошли – материнского или отцовского. Будем обозначать данную группу генов символом **Impr**.

Содержание хранимой ими памяти закладывается в **процессе спермато- и оогенеза** путём метилирования ДНК. На какой-то стадии развития каждой половой клетки некоторые гены группы **Impr** метилируются, и после оплодотворения **на протяжении всей последующей жизни нового организма** они остаются неактивными. Правда, в тех клетках, которые готовятся к митозу, такие гены после репликации оказываются полуметилированными: метильных групп нет в новосинтезированной цепи ДНК. Но этот «недостаток» быстро исправляется путём метилирования новой цепи в районе данных генов. Другие гены (из той же группы) не метилированы в гаметах и в своё время начинают функционировать.

Нередко утверждают, что профиль метилированности генов **Impr** устанавливается в созревающих половых клетках чуть ли не случайно и в разных сперматозоидах (как и в ооцитах) совершенно различен. Но это, видимо, не так. Известно, что среди генов **Impr**, по крайней мере, у 11 генов (важных, помимо прочего, для развития внезародышевых органов – желточного мешка и плаценты) экспрессируется преимущественно отцовский вариант; значит, в материнских хромосомах эти гены метилированы и неактивны, а у 5 генов (определяющих, в частности, развитие самого зародыша) экспрессируется женский вариант, тогда как в отцовских хромосомах эти гены выключены метилированием. Следовательно, импринтинг не так уж «бесстрастен»; напротив, он совершенно явно демонстрирует свою «предвзятость» к определённым генам сперматозоидов и определённым генам ооцита. Иными словами, имеется достаточно чёткое **распределение активности между отцовскими и материнскими генами группы Impr**. И именно в этом заданном распределении активности, скорее всего, и состоит биологическая роль импринтинга.

Развитие внезародышевых органов, в т.ч. плаценты, находится под «суровым» контролем отцовских генов зародыша, которые, будучи чужеродными для материнского организма, возможно, меньше реагируют на его «капризы» и заставляют мать создать наилучшие условия для развития зародыша. А **материнские гены зародыша**, видимо, более приспособлены к родной среде материнского организма, и поэтому им отведена роль контролировать рост зародыша.

Если вариабельность импринтинга имеет всё же место, то она либо невелика, либо, в основном, касается лишь какой-то подгруппы генов **Impr**.

Вновь вернёмся к тому обстоятельству, что профиль метилированности генов группы **Impr** устанавливается в созревающих половых клетках.

И сопоставим два факта. Первый: в предшественниках половых клеток (скажем, уже в бластомерах, не говоря о более поздних клетках) материнские и отцовские гены **Impr** маркированы по-разному. Второй факт: во всех зрелых сперматозоидах все гены считаются отцовскими и маркированы одинаково – «по-мужски», – а в ооците все гены должны быть метилированы «по-женски». Сопоставление приводит к выводу: в ходе гаметогенеза должно происходить не просто метилирование определённых генов, а **переметилирование**:

– демаркировка генов **Impr** (путём их полного или частичного деметилирования), т.е. ликвидация прежнего разделения этих генов на отцовские и материнские,

– новая маркировка (путём метилирования в сперматогенных клетках всего множества генов **Impr** по мужскому типу, а в ооцитах – по женскому).

На какой стадии гаметогенеза это происходит? Есть разные мнения на данный счёт. С точки зрения автора, вероятней всего – во время мейоза. Скажем, после репликации хромосом – в прелептотене не происходит пострепликативное дOMETИЛИРОВАНИЕ новых цепей ДНК (как в митотическом цикле), а тогда же или позже (например, при тотальной «чистке» генома в ходе конъюгации и кроссинговера) совершается деметилирование – по крайней мере, генов **Impr**.

Затем, после кроссинговера, можно было бы прометилировать эти гены, как надо. К сожалению, однако, Природа далеко не всегда подтверждает наши предположения. Что она объявит на этот раз, автор предсказывать не берется. Ну раз мейоз, то читатель, верно, ждёт, что и импринтинговое метилирование ДНК автор «пристегнет» к омолаживающей функции мейоза. Нет, ожидания напрасны. Этот процесс затрагивает не более 0,1% наших генов, и приписывать ему чрезмерное значение не стоит. Скорее всего, это просто ещё одна – и не самая ключевая – функция мейоза, которая, конечно, связана с ключевыми функциями, но не влияет на их реализацию.

Существует интересное и в то же время вполне естественное следствие жёсткого распределения активности между отцовскими и материнскими генами группы **Impr**. Если в оплодотворённом ооците искусственным путём заменить мужской или женский пронуклеус на пронуклеус противоположного пола, то развитие зародыша рано или поздно останавливается. Причём при чисто мужском генотипе (создаваемом двумя мужскими пронуклеусами

ми) внезародышевые органы развиты относительно нормально, а ущербен сам зародыш (поскольку за развитие последнего отвечают, помимо прочих, те самые 5 генов, что активны лишь в материнских хромосомах). При чисто же женском генотипе ситуация обратная: зародыш – крупный, а внезародышевые органы не развиты (т.к. их развитие должно поддерживаться теми 11-ю генами, которые активны только в отцовских хромосомах).

Между прочим, этот приём – объединение в ооците двух пронуклеусов, выделенных из половых клеток одного и того же организма, – в своё время пытались использовать для клонирования данного организма. Как видим, импринтинг генов такую возможность исключает.

Через некоторое время после оплодотворения в зародыше регистрируются вначале волна деметилирования, а затем – мощная волна метилирования ДНК, продолжающаяся примерно до имплантации зародыша в эндометрий. В литературе¹ эти процессы рассматривают как продолжение импринтинга. Но, с точки зрения автора, гены группы **Impr** вряд ли являются объектом данных процессов: малочисленность генов **Impr** не соответствует описываемой мощи «волн», кроме того, после образования единого генома, кажется, уже поздно заново разбираться, какой ген откуда пришёл. Поэтому, скорее всего, здесь имеет место уже иной вид метилирования. И с иными последствиями от выключения гена соответствующей ДНК-метиلاзы. Так, показано, что стволовые клетки с резко сниженной активностью этого гена способны делиться, но погибают, когда специфическими индукторами пытаются вызвать их дифференцировку. Это никак не ассоциируется с импринтингом.

Белки сиртуины и их гены

Кроме генов, представленных в табл. 3, существует ещё множество генов, которых так или иначе влияют на старение. Среди них отметим также гены белков **сиртуинов**. Сиртуины² – это группа ферментов, осуществляющих деацетилирование гистоновых белков хромосом. При этом деацетилирование сопровождается гидролизом известного кофермента НАДН и приводит к переходу соответствующего участка хромосомы из разрыхлённого (активного) состояния эухроматина в плотное (неактивное) состояние гетерохроматина.

В связи с этим, считают, что сиртуины ответственны за неактивность («молчание») тех генов, которые в данной клетке на данной стадии её дифференцировки не должны функционировать. Отсюда и название данных белков: от англ. **sirtuins, Silent Information Regulation** (примерно: **регуляторы молчащей информации**). Одновременно им приписывают важную роль в репарации повреждённых участков прочих генов. Возможно, эта роль состоит в оперативном выключении активности данных участков до их полного восстановления.

Существует точка зрения, что старение клеток обусловлено возникновением и постепенным усилением недостаточности сиртуинов. Этому способствует то, что с возрастом, из-за ослабления функций защитных систем, возрастает скорость повреждений ДНК и всё большее количество сиртуинов «отвлекается» на повреждённые гены и, кроме того, может ухудшаться функция генов самих сиртуинов. В результате активируются нежелательные в данной клетке гены – развивается хаос и кавардак. Что и представляет собой старение. Экспериментально показано, что гиперэкспрессия в дрожжах гена Sir2, кодирующего один из сиртуинов, увеличивает число возможных делений дрожжевой клетки. Утверждается, что сиртуины существуют у всех эукариот и обуславливают общий для них механизм старения. У млекопитающих аналогом гена Sir2 дрожжей является ген SIRT1.

Итак, вся задача борьбы со старением состоит, согласно вышеизложенному, в активации гена SIRT1. Такой способностью (активировать данный ген) обладает сильный антиоксидант **ресвератрол**, входящий в состав красных вин. Его применение, как пишут, продлевает жизнь многих позвоночных – от рыб до млекопитающих. Ведётся разработка препаратов, которые бы оказывали гораздо более мощное воздействие на содержание сиртуинов в клетках.

Всё это очень напоминает сказку о теломере. Которая (сказка) тоже была объявлена универсальным механизмом старения и обещала скорые чудо-таблетки. Кроме того, из описания видно, что даже в рамках данной концепции в старении задействовано много других участников, помимо нескольких сиртуинов. И всё никак не может сводиться только к недостаточности сиртуинов.

Утверждение о «всех эукариотах», мягко говоря, несколько поспешно: сомнительно, что были исследованы представители всех основных типов и классов животных. Этот момент принципиальный: как одни безапелляционно утверждают, что множество животных не стареют, так и другие без весомых доказательств говорят об универсальном для всех механизме старения.

Ресвератрол мог оказывать положительное действие и как антиоксидант – независимо от сиртуинов. Наконец, другие источники ставят под сомнение абсолютную благотворность действия и сиртуинов, и ресвератрола. Так, клетки дрожжей и нейроны млекопитающих лучше переносят некоторые воздействия (голодание, окислительный стресс) не при наличии, а при отсутствии в них активности сиртуинов. Кроме того, сиртуины тормозят активность и некоторых нужных белков, например, опухолевого супрессора FoxO1, что способствует возникновению рака простаты.

Вместе с тем, исходные представления о сиртуинах как о особых деацетилазах гистонов, способствующих гетерохроматизации генов, видимо, вполне справедливы. Это позволяет использовать данные представления, а также вышеприведённые сведения о метилировании ДНК, для построения гипотезы, объясняющей **необратимость дифференцировки** у высших животных. У этих животных уже ранние стадии дифференцировки стволовых клеток, даже не сопровождающиеся заметными морфологическими изменениями, являются, по существу, необратимыми. Об этом свидетельствует, например, такое явление, как коммитирование – сужение потенций (числа возможных направлений развития) при переходе от предыдущих поколений клеток к после-

¹ См., напр.: Прохорчук А.В., Рузов А.С. Указ. соч.

² Барсова Р. Сиртуины. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://moikompa.ru/compas/sirtuin/compas_page/1 (2).

дующим. Так, после нескольких циклов деления **полипотентной** стволовой клетки крови (СКК) образуются вначале **олигопотентные**, а затем – внешне идентичные предыдущим, **унипотентные** клетки, каждая из которых способна развиваться только в одном направлении (только в эритроциты, или только в нейтрофильные лейкоциты – и т.д., всего до 10 направлений). И, насколько известно, ни при каких воздействиях унипотентная клетка не «воротится» назад, не станет хотя бы бипотентной. Т.е. из клетки, запрограммированной только на эритроциты, уже не образуется, например, тот же нейтрофил. И совсем очевидным это становится, когда появляются ясные морфологические особенности, даже если клетка (в частности, базофильный или полихроматофильный эритробласт) сохраняет способность к активным делениям.

Итак, вопрос состоит в том, каким образом достигается необратимость дифференцировки? Она (необратимость) не является какой-то абсолютной данностью, как второе начало термодинамики, и, подобно старению, ни этим началом, ни каким-либо иным известным законом не обусловлена. Действительно, у амфибий (особенно у тритонов и саламандр), с их поразительной способностью к регенерации, последняя осуществляется, как считают, не за счёт активизации стволовых клеток, а путём дедифференцировки зрелых мышечных и костных клеток возле места травмы. Да и у млекопитающих, как известно, малигнизация клеток сопровождается частичной дедифференцировкой. Что же препятствует ей в нормальных клетках млекопитающих?

Ранее было сказано, что дефицит ДНК-метилазы в стволовых клетках лишает их способности к дифференцировке. В то же время, и сиртуины участвуют в выключении ненужных генов по мере дифференцировки. Таким образом, для дифференцировки необходимы и ДНК-метилаза (одна из нескольких), и сиртуины. Но при этом сиртуины должны не только блокировать выключаемые гены, но и не препятствовать деблокировке включаемых генов. А для этого их действие должно быть **обратимым**. Что, собственно, соответствует ранее сказанному о них. Тогда необратимость дифференцировки должна обеспечиваться метилированием ДНК. Возможно, субстратом метилирования являются интроны выключаемых генов, и это является их главной функцией. Такое метилирование или само способно ингибировать ген (усиливая взаимодействие цепей ДНК в интронах) и лишь подкрепляется компактизацией хромосомы в области гена (вызываемой действием сиртуинов), или служит почти «несмываемой» меткой, показывающей участки, в области которых при всех обстоятельствах необходимо деацетилировать гистоны.

В результате получается: при дифференцировке стволовой клетки часть генов (как работавших до того, так и не работавших) должна подвергаться необратимому выключению путём метилирования интронной ДНК и деацетилирования гистонов, а другая часть ещё не работавших генов на определённой стадии дифференцировки должна освободиться от «опёки» сиртуинов и за счёт ацетилирования блокировавших их гистонов активироваться. Любопытно заметить, что гены самих гистонов лишены интронов. Из излагаемой гипотезы следует, что эти гены необратимо не выключаются. В чём, видимо, и нет никакой необходимости.

При старении степень метилированности ДНК, как известно, снижается. Если это касается и того (или именно того) метилирования, о котором здесь шла речь, то, значит, те или иные гены могут выходить из «молчащего» состояния. Последствия очевидны: от сбоя работы и гибели клетки до её частичной дедифференцировки и малигнизации.

Амфибии, которые так поражают способностью к регенерации, имеют, помимо прочих, и такую особенность. Их геном раз в 10 больше генома человека, но не за счёт большего числа генов или размера спейсеров, а за счёт необыкновенной длины интронов в генах, что является следствием некогда произошедшей многократной амплификации исходных интронов. Возможно, этим и обусловлена способность клеток к дедифференцировке, лежащая в основе регенерации. Например, нетрудно представить, что на таком обширном интронном пространстве активность ДНК-метилазы оказывается недостаточной для насыщения этого пространства тем количеством метильных групп, которое необходимо для обеспечения необратимости выключения генов. Это означает, что, в соответствии с двумя вышеупомянутыми вариантами, связывание сиртуинов с генами происходит либо вообще независимо от присутствия метильных групп и просто обратимо, либо инициируется всё же редкими метильными группами, но теперь эта относительно слабая инициация тоже оказывается обратимой.

Продолжение следует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсова Р. Сиртуины. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://moikompass.ru/compas/sirtuin/compas_page/1 (2).
2. Ванюшин Б.Ф., Бердышев Г.Д. Молекулярно-генетические механизмы старения. М.: Медицина, 1977. 322 с.
3. Вейсман А. Лекции по эволюционной теории. Часть I. М., 1905.
4. Геронтология *in silico*: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты / Под ред. Г.И.Марчука, В.Н.Анисимова, А.А.Романюхи, А.И.Яшина. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 535 с.
5. Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни. М. Наука, 1991. 280 с.
6. Мушкамбаров Н.Н. Изучение метилирования ДНК в животных тканях. Дисс. ... канд.биол.н. М.: 1-й ММИ им. И.М.Сеченова, 1978. 132 с.
7. Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. 2-е издание. М. «МИА», 2007. 540 с.
8. Прохорчук А.В., Рузов А.С. Метилирование генома и его роль в функционировании эукариотического организма // Генетика. 2000. Т. 36. № 11.
9. Энгельс Ф. Анти-Дюринг // Маркс К., Энгельс Ф. Соч. 2-е изд. Т. 2.
10. Энгельс Ф. Диалектика природы // Маркс К., Энгельс Ф. Соч. 2-е изд. Т. 2.