

51. Kirkwood T. B. L. The disposable soma theory of aging // In D. E. Harrison (Ed). Genetic effects on aging II. —Caldwell, NJ: Telford Press, 1990. — P. 9—19.
52. Novoseltsev V. N., Arking R. Homeostatic modeling helps to analyze mechanisms of aging in *Drosophila* // Third European Congress of Biogerontology // Biogerontology. — 2002. — Vol. 3. — P. 83.
53. Arking R., Burde V., Graves K. Identical longevity phenotypes are characterized by different patterns of gene expression and oxidative damage // Exp.Gerontol. — 2000. — Vol. 35. — P. 353—373.
54. Danchin A., Medigue C., Gascuel O., et. al. From data banks to data bases // Res. Microbiol. — 1991. — Vol. 142. — P. 913—916.
55. Новосельцев В. Н., Хальфин Р. А., Грибанова Т. Н. Моделирование организма человека в целом для задач управления биосоциальными и биотехническими процессами // Приборы и системы управления. — 1998. — № 6. — С. 66—73.
56. Дагаев В. Н., Новосельцев В. Н. Параметризация фармакокинетических моделей для исследования процессов управления в организме // Автоматика и телемеханика. — 1995. — № 4. — С. 130—144.
57. Новосельцев В. Н., Новосельцева Ж. А., Яшин А. И. Математическое моделирование в геронтологии — стратегические перспективы // Успехи геронтологии. — 2003. — № 12. — С. 149—165.
58. Новосельцев В. Н., Яшин А. И. Почему мы стареем: математические модели истории жизни // Информационные технологии в здравоохранении. — 2002. — № 5—7. — С. 2—11.
59. Новосельцев В. Н. Математическое моделирование организма // Наука в России. — 2003. — № 1. — С. 52—58.

☎ (095) 334-88-91

E-mail: Novoselc@ipu.rssi.ru



УДК 577.71:519.95

## НАДЕЖНОСТЬ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ И РОЛЬ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ КИСЛОРОДА В СТАРЕНИИ

В. К. Кольтовер

Институт проблем химической физики, г. Черноголовка

Показано, что на основе концепции ограниченной надежности биомолекулярных конструкций можно построить обобщенную теорию, способную объяснить количественные закономерности старения.

### ВВЕДЕНИЕ: КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТАРЕНИЯ

Старение — универсальный процесс, которому подвержены все организмы, как многоклеточные, так и одноклеточные. Внешние, качественные признаки старения весьма разнообразны. Например, у человека с возрастом седеют волосы, а у дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* — увеличивается число “почечных рубцов” на клеточной оболочке. Однако, несмотря на огромное феноменологическое разнообразие видов, старение всех организмов подчиняется (с хорошим приближением) универсальным количественным закономерностям.

Во-первых, существует обратная корреляция между видовой продолжительностью жизни и интенсивностью окислительного метаболизма:

$$TV_0 = 0,8 \cdot 10^8 M^{0,96}, \quad (1)$$

где  $T$  — максимальная продолжительность жизни для животных данного вида (с),  $V_0$  — скорость потребления кислорода в состоянии покоя ( $\text{см}^3/\text{с}$ ),  $M$  — масса тела животного (кг) [1]. Впервые это эмпирическое уравне-

ние было установлено в 1908 г. немецким физиологом М. Рубнером для домашних животных и человека. К настоящему времени оно подтверждено для млекопитающих и животных других видов.

Во-вторых, интенсивность смертности растет при старении по экспоненте:

$$h(t) = h_0 \exp(\gamma t), \quad (2)$$

где  $h_0$  и  $\gamma$  — независимые от времени параметры. Величина  $h(t)$  — это условная вероятность дожить до возраста  $t$ , измеряемая статистически как  $\frac{\Delta n}{\Delta t \cdot n(t)}$ , где  $n(t)$  — число живых индивидумов возраста  $t$ ,  $\Delta n$  — число умерших за время  $\Delta t$ . Эту кинетическую закономерность установил Б. Гомпертц в 1825 г., изучавший статистику смертности в Англии. Справедливость “закона Гомпертца” (2) подтверждена для людей (в возрастном интервале примерно от 35 до 90 лет в современном постиндустриальном обществе) и для животных, исследованных в лабораторных условиях — мышей, крыс, плодовых мушек, нематод, моллюсков и др. (см., например, работы [2—4] и цитированную в них литературу). Смертность прока-



риотов *Acholeplasma laidlawii* в стационарной фазе культуры клеток также следует “закону Гомпертца” [5].

Существование универсальных количественных закономерностей позволяет думать, что в основе старения, несмотря на сложность и многообразие его внешних проявлений, лежит некая универсальная причина. Американский химик Д. Харман выдвинул гипотезу о свободных радикалах кислорода как универсальной причине старения живых систем [6]. За прошедшие полстолетия эта идея получила ряд экспериментальных подтверждений в исследованиях патогенеза многих возрастных заболеваний — атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, болезни Альцгеймера и др. На основе этой гипотезы можно объяснить “закон Рубнера” (1): при дыхании возникают свободные радикалы кислорода [6]. Однако за прошедшие полвека стало ясно, что в живых системах нет цепных свободнорадикальных процессов. Поэтому свободнорадикальная гипотеза в своем первоначальном виде не в состоянии объяснить экспоненциального роста смертности (“закона Гомпертца”).

В настоящей работе мы показываем, что возникновение свободных радикалов при дыхании — это одно из следствий общего свойства биосистем, а именно: ограниченной надежности функционирования, лимитированной генетическими программами. На основе концепции ограниченной надежности биосистем можно объяснить и другие экспериментальные данные современной геронтологии, в том числе — количественные закономерности старения.

## 1. ОСНОВНЫЕ ИДЕИ ТЕОРИИ НАДЕЖНОСТИ

Проблема надежности биологических систем охватывает решение таких задач, как классификация отказов, выяснение их количественных закономерностей, физико-химических механизмов и путей реализации в функциональных нарушениях, анализ типов резервирования и механизмов восстановления в биосистемах, разработка методов испытаний надежности биосистем, развитие аппарата математической теории надежности применительно к биосистемам. Исследования в этом направлении в СССР и за рубежом были стимулированы конференциями “Системы надежности клетки” (Киев, 1975 г.) и “Надежность клеток и тканей” (Канев, 1977 г.). В 1978 г. при поддержке академика А. И. Берга при Научном совете по кибернетике АН СССР была создана проблемная комиссия “Надежность биологических систем” (после смерти А. И. Берга — при Научном совете по проблемам биологической физики АН СССР). Комиссия регулярно проводила всесоюзные конференции [7–11], последняя из которых (по надежности и эволюции биосистем) состоялась в Черноголовке в 1989 г.

Подобно техногенным объектам, биологические объекты несовершенны. Нормальное функционирование чередуется со случайными сбоями или отказами. В инженерных дисциплинах надежность технического объекта определяется как его свойство выполнять свою функцию в течение заданного времени в заданных условиях (см., например, книгу [12]). То же самое определение применимо к биологическим объектам [2]. Соответственно, количественной характеристикой надежности работы в интервале времени  $(0, t)$  служит вероятность безотказной работы:

$$R(t) = \text{Prob}(\tau > t) = n(t)/n_0,$$

где  $\tau$  — время безотказной работы объекта в заданном интервале времени, которое является случайной величиной. Статистически надежность измеряется как отношение числа объектов  $n(t)$ , не утративших работоспособность за время  $t$ , к начальному размеру выборки  $n_0$ . Функция  $R(t)$  называется функцией надежности, а ее график зависимости от времени — кривой выживания. Вероятность отказа в том же интервале времени определяется как вероятность противоположного события  $G(t)$ , и равна, соответственно,  $1 - R(t)$ , а производная от нее по времени, т. е. функция плотности распределения  $g(t) = dG/dt$ , называется частотой отказов. Логарифмическая производная от функции  $R(t)$  называется функцией риска (интенсивностью отказов):

$$h(t) = -R'/R = -d(\ln R)/dt.$$

Она представляет собою условную вероятность возникновения отказа в интервале времени  $(t, t + dt)$  при условии, что объект работал безотказно до момента времени  $t$  [2, 12].

Вполне очевидна аналогия между отказом технического объекта и смертью живого “объекта”. Также очевидна аналогия между функциями надежности, частотой отказов, интенсивностью отказов технических систем и, соответственно, функциями выживания, смертностью, интенсивностью смертности людей и животных. Поэтому попытки формального применения в биологии старения стандартных схем и формул математической теории надежности имеют вполне тривиальный характер [4]. На основе теории надежности нетрудно построить модель стареющей системы с растущей во времени функцией интенсивности смертности. Существенно труднее наполнить элементы формальной схемы биофизическим содержанием.

## 2. ЛИМИТИРОВАННАЯ НАДЕЖНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

На всех уровнях организации биосистем центральную роль играют конструкции, которые синтезируются, функционируют и обновляются в соответствии со специальными генетическими программами [13]. Функция фермента как простейшей “молекулярной конструкции” — это катализ конкретной биохимической реакции. Свообразие ферментной конструкции — в ее молекулярных размерах и конформационной лабильности макромолекулы. Ферментативный катализ, будь то химическое превращение субстрата или окислительно-восстановительная реакция электронного транспорта, сопровождается электронно-конформационной перестройкой макромолекулы, т. е. изменением пространственного расположения огромного числа атомов и атомных групп (“конформационной релаксацией”) [13]. Поскольку конструкция молекулярных размеров подвержена флуктуациям параметров среды (температуры и др.), то при электронно-конформационных перестройках случаются сбои (ошибки “конформационной релаксации”). Этот “техногенный подход” к биологическим объектам впервые был сформулирован применительно к электронно-транспортным ферментам в работе [14]. Затем была развита концепция ограниченной надежности функционирования биомолекулярных конструкций [2, 3, 15–17].

Рассмотрим с этой точки зрения функционирование митохондриальных электронно-транспортных цепей (ЭТЦ). Это мембранные комплексы специализированных “редокс-ферментов”, встроенных во внутреннюю

мембрану митохондрий. Их функция состоит в осуществлении последовательности окислительно-восстановительных реакций переноса электронов от так называемых “субстратов окисления” (никотинамиднуклеотида NADH или сукцината) на цитохромоксидазу и далее на кислород как конечный акцептор электронов с восстановлением его до воды. В этой цепочке окислительно-восстановительных реакций выделяется энергия, которая используется еще одним липопротеидом, АТФ-синтазой, для синтеза универсальной “энергетической валюты” клетки — аденозинтрифосфата (АТФ) (см., например, монографию [13]). Однако ЭТЦ работают с ограниченной надежностью: вместо двухэлектронного восстановления молекулы  $O_2$  до  $H_2O$  случается одноэлектронное восстановление  $O_2$ , и возникает свободный анион-радикал кислорода — супероксидный радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ). Этот радикал инициирует химические реакции, в которых происходит окисление ДНК, белков, липидов и других биомолекул, т. е. он токсичен [18–20]. Поэтому с точки зрения теории надежности элементарный акт электронного переноса, в результате которого возникает радикал  $O_2^{\cdot-}$ , представляет собой сбой (“отказ”) в работе ЭТЦ.

Наименее надежным оказалось то звено ЭТЦ, в состав которого входит так называемый коэнзим Q (CoQ). Этот кофермент, принимая электрон от NADH-дегидрогеназы или сукцинатдегидрогеназы, восстанавливается до семихинонного радикала ( $CoQ^{\cdot}$ ), который затем окисляется, передавая электрон следующему редокс-ферменту ЭТЦ, так называемой редуктазе цитохрома *c*. Однако, время от времени, в работе этого “одноэлектронного челнока” случается сбой: электрон от семихинонного радикала  $CoQ^{\cdot}$  передается не очередному редокс-ферменту ЭТЦ, а случайно подвернувшейся молекуле кислорода, в результате чего возникает свободный радикал  $O_2^{\cdot-}$  (“свободнорадикальный отказ”).

Интенсивность таких отказов в интактных митохондриях близка к нулю. В клетках, однако, имеются митохондрии с поврежденной (“изношенной”) структурой. Например, повреждаются митохондрии, испытывавшие, хотя бы кратковременно, гипоксию или ишемию. Интенсивность генерации радикалов кислорода в таких митохондриях резко возрастает. В наших экспериментах с митохондриями, выделенными из сердца крыс, было показано, что после гипоксии или ишемии увеличивается вероятность реакции автоокисления семихинонного радикала  $CoQ^{\cdot}$  кислородом и образования  $O_2^{\cdot-}$  [21]. Причиной этого оказалась пониженная вязкость мембранных липидов поврежденных митохондрий, из-за чего повышается флуктуационная подвижность липопротеидов и, соответственно, снижается точность адресной передачи электрона молекулами  $CoQ^{\cdot}$  [22]. Отметим, что гипоксия — это обычное состояние тканей старых животных, в особенности — сердца и скелетных мышц, поэтому митохондрии, выделенные, например, из сердца старых крыс, характеризуются существенно более высокой, чем митохондрии молодых животных, интенсивностью генерации  $O_2^{\cdot-}$  и других активных форм кислорода (продуктов реакций  $O_2^{\cdot-}$ ) [22].

Учитывая экспериментальные данные об интенсивности генерации и средней концентрации  $O_2^{\cdot-}$ , можно

оценить, что возникновение радикалов  $O_2^{\cdot-}$  в митохондриях происходит с интенсивностью  $\lambda \approx 0,25 \text{ с}^{-1}$  [15, 17].

В митохондриях имеется специализированный антиоксидантный фермент, митохондриальная супероксиддисмутаза (mtSOD), который катализирует реакцию дисмутации  $O_2^{\cdot-}$  в пероксид водорода ( $H_2O_2$ ) и обычный кислород ( $O_2$ ), тем самым защищая субклеточные структуры от  $O_2^{\cdot-}$  и его продуктов [18]. Полагая, что элементарные акты устранения супероксидных радикалов — это случайные события, можно оценить, что устранение радикалов  $O_2^{\cdot-}$  ферментом происходит с интенсивностью

$$\mu \approx -\Delta n(t)/n(t)\Delta t = k_e[E] \approx 1,3 \cdot 10^4 \text{ с}^{-1},$$

где  $\Delta n(t)$  — число радикалов, устраняемых за время  $\Delta t$ ,  $k_e$  и  $[E]$  — константа скорости ферментативной реакции и концентрация mtSOD, принимаемые приблизительно равными, соответственно,  $(2...3) \cdot 10^9 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$  и  $(0,4...0,5) \cdot 10^{-5} \text{ М}$  [18]. Тогда в рамках той же модели “размножения и гибели” получается, что вероятность “просачивания” радикала  $O_2^{\cdot-}$  через mtSOD-защиту

$$z = (\lambda/\mu)/(1 + \lambda/\mu) \approx 1,9 \cdot 10^{-5},$$

т. е. приблизительно два радикала из 100 000.

Биохимические механизмы цитотоксичности  $O_2^{\cdot-}$  не вполне ясны, однако в литературе уже утвердился термин “окислительный стресс”, под которым понимается вред, наносимый организму продуктами химических реакций свободных радикалов кислорода. Показано, что  $O_2^{\cdot-}$  и другие активные формы кислорода инициируют запрограммированную гибель клеток — апоптоз. Тем самым осуществляется, по-видимому, выбраковка клеток с плохими митохондриями, генерирующими слишком много  $O_2^{\cdot-}$  [20].

### 3. СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ОТКАЗЫ

Известны два основных метода создания надежных устройств из ненадежных функциональных элементов: резервирование и восстановление (или ремонт) отказавших элементов [12]. Известно также, что если функциональные элементы заменять только по мере того, как они выходят из строя, то интенсивность отказов системы становится недопустимо высокой. Чтобы уменьшить интенсивность отказов, необходимо обеспечить профилактическую замену элементов — до того, как они выходят из строя из-за износа. Своевременные профилактические замены повышают надежность систем в сотни раз [12].

Естественно полагать, что высокая надежность биосистем, как и технических, обеспечивается, прежде всего, путем профилактических замен элементов. Более того, количество макромолекулярных конструкций в любой клетке так велико, что вряд ли возможно своевременное узнавание и устранение повреждений “постфактум”. Надежность на клеточном уровне организации обеспечивается путем непрерывного “кругооборота” белков, липидов, митохондрий и т. д. Например, половина митохондрий в клетках миокарда крысы обновляется за 17,5 сут., а эритроцит в крови человека живет в среднем



126 сут. Имеются экспериментальные данные о возрастном снижении интенсивности этого обновления [23]. Поэтому, если предположить, что в соответствующих генетических программах заложено возрастное снижение интенсивности и (или) точности профилактических замен, то это должно с неизбежностью привести к снижению с возрастом надежности системы как целого и к ее гибели. Далее изложена теория старения, построенная на этой основе.

#### 4. ТЕОРЕТИКО-НАДЕЖНОСТНАЯ МОДЕЛЬ СТАРЕНИЯ

Принимая во внимание структурно-функциональную неоднородность и связанную с ней иерархичность живых систем, мы сформулировали *первый постулат* теории: существование в организме конечного числа  $N$  критических структур (КС).

*Второй постулат*: со временем в КС происходят необратимые изменения стохастического характера — повреждения, вызванные активными формами кислорода и другими причинами. По сути — это статистическая задача о накоплении случайных структурных дефектов в линейном полимере. Введем параметр  $m_j$  ( $j = 1, 2, \dots, N$ ) “длины дефекта” в начальный момент времени  $t = 0$ . Вид функции плотности распределения  $f$  для этой случайной выборки должен, в принципе, определяться экспериментальным путем, но можно попытаться его “угадать”. Очевидно, что протяженные по длине дефекты менее вероятны, чем относительно короткие дефекты. Следовательно, функция  $f$  должна быть асимметричной. Поэтому в качестве первого приближения можно взять экспоненциальное распределение как простейший тип асимметричного распределения случайной величины. Следует также принять во внимание пороговые эффекты, которыми характеризуются важнейшие процессы в биосистемах, как, например, триггерный механизм проведения нервного импульса, конформационные превращения ДНК и белков и т. д. Таким образом, в первом приближении можно принять для функции распределения начальных дефектов экспоненциальное усеченное распределение с плотностью:

$$f(m) = \alpha \exp(-\alpha m) / [1 - \exp(-\alpha m_c)],$$

где  $\alpha > 0$  — параметр распределения,  $0 < m < m_c$ .

Далее, полагая, что каждая из КС является одинаково жизненно важной, вводим *третий постулат* теории: смерть наступает в тот момент, когда отказывает любая из КС. Тогда длительность жизни индивидуума  $\tau = \min \tau_j$ ,  $j = 1, 2, \dots, N$ , где  $\tau_j = b(m_c - m_j)$ . Параметр  $b > 0$  имеет смысл величины, обратной скорости возрастных изменений в КС. Для простоты предполагается, что параметры  $m_c$ ,  $\alpha$  и  $b$  одинаковы для всех КС и не зависят от времени. Тогда функция выживания получается просто как функция распределения минимального значения для случайной выборки размера  $N$ :

$$R(t) = \{1 - [\exp(\gamma t) - 1] / [\exp(\gamma T) - 1]\}^N,$$

где  $T = bm_c$ ,  $\gamma = \alpha/b$  [15, 16]. Из этого выражения для значений  $t$ , не слишком близких к значению  $T$ , легко получить

$$R(t) \approx \exp\{(h_0/\gamma)[1 - \exp(\gamma t)]\}$$

и соответствующее выражение для функции интенсивности смертности:

$$h(t) = -d(\ln R)/dt = h_0 \exp(\gamma t), \quad (3)$$

в котором  $h_0 = \gamma N / [\exp(\gamma T) - 1]$ . Формула (3) эквивалентна формуле (2). Таким образом, в рамках этой простой математической модели выводится “закон Гомпертца”.

Для реальных популяций человека известны случаи отклонения кривых интенсивности смертности от “закона Гомпертца” в области больших значений  $t$ . Было показано, что эти отклонения можно объяснить гетерогенностью реальных популяций, т. е. вариабельностью индивидуумов (генетической, демографической и др.), вводя соответствующие функции распределения в параметры модели, например, полагая, что значения  $T$  и  $\gamma$  подчиняются гауссовому распределению [24].

Величина  $T$  — это продолжительность жизни “идеального” индивидуума, не имеющего дефектов в начальный момент времени. Действительно, каждый вид характеризуется своей предельной продолжительностью жизни. Например, в природе не встречается мыши старше трех лет, обезьяны старше 50-ти и люди старше 120-ти (если не принимать во внимание мифы и газетные сказания). Если, согласно литературным данным, принять, что максимальная продолжительность жизни человека равна примерно 95-ти годам,  $\gamma \approx 0,0612 \dots 0,119 \text{ год}^{-1}$  и  $h_0 \approx 0,82 \dots 0,022 \cdot 10^{-3} \text{ год}^{-1}$ , то, учитывая полученное выражение для  $h_0$ , находим  $N \approx 5 \dots 15$  [16]. По своему порядку эта оценка совпадает с известным к настоящему времени числом так называемых “генов продолжительности жизни” [25]. Например, мутация гена “*age-1*” в клетках нематоды *Caenorhabditis elegans* приводит к 65%-му увеличению продолжительности жизни червей. При этом отмечен существенный рост активности антиоксидантных ферментов СОД и каталазы в клетках мутанта. Аналогичные результаты известны также для мышей и мух дрозофил [25].

Для случая генетических повреждений, вызываемых супероксидными радикалами, модель дает следующее выражение для максимальной продолжительности жизни [16]:

$$T = bm_c \approx m_c / [(qV/E)u + D], \quad (4)$$

в котором  $q$  — вероятность сбоя митохондриальной ЭТЦ с образованием  $O_2^{\cdot-}$ ,  $V$  — скорость дыхания,  $E$  — активность mtSOD,  $u$  — вероятность реализации генетических дефектов, индуцированных свободными радикалами, в функциональных нарушениях КС,  $D$  — коэффициент, учитывающий роль других факторов в старении (помимо активных форм кислорода). По сути, формула (4) эквивалентна формуле (1): отрицательная корреляция между видовой продолжительностью жизни и уровнем потребления кислорода. Таким образом, в рамках нашей модели находит объяснение “закон Рубнера”.

Уравнение (4) предсказывает существование линейной зависимости между величинами  $1/T$  и  $V/E$ . Воспользовавшись известными из литературы результатами измерений активности СОД в тканях мозга, сердца и печени животных 13 видов и человека, а также соответствующими данными об интенсивности основного обмена и максимальной продолжительности жизни, мы действительно получили в этих координатах прямые линии.

Например, для мозга было получено следующее выражение:

$$1/T = (0,0132 \pm 0,0002)(V/E) + (0,004 \pm 0,002), \\ r = (0,997 \pm 0,002), \quad (5)$$

где  $r$  — коэффициент корреляции.

Из значения свободного члена уравнения (5) получаем, что продолжительность жизни могла бы достичь  $1/0,004 = 250$  лет при неограниченно высокой надежности защиты от  $O_2^{\cdot-}$  (при  $E \rightarrow \infty$ ). Аналогичные линейные корреляции были получены для печени и сердца с предельными значениями, соответственно, 200 и 100 лет [3, 17].

Можно предположить, что “критические структуры” — это специализированные регуляторные гены, которые локализованы в хромосомах специализированных клеток, например, гипоталамуса, и контролируют системы надежности клеток и тканей. Вполне вероятно, что эти гены управляют профилактическими заменами (биосинтезом) малонадежных биомолекулярных конструкций, в том числе — электрон-транспортных ферментов, СОД и др. Известно, что на концах хромосом имеются так называемые “теломерные повторы” ( $TTAGGG$ )<sub>n</sub>. Согласно А. М. Оловникову, длина теломерного повтора уменьшается с каждым делением клетки, и чем больше раз поделится клетка, в которой находятся данные хромосомы, тем короче становятся их теломерные концы [26]. Можно предположить, что с возрастом, когда теломерные концы обрезаются до критической величины ( $m_c$ ), то это приводит к фатальному снижению надежности функционирования генов, локализованных в соответственных хромосомах, и, соответственно, к фатальному снижению эффективности защиты клеток и тканей от свободных радикалов и других неблагоприятных факторов. Таким образом, свободнорадикальную теорию старения Д. Хармана [6] и теорию теломерной маргинотомии А. М. Оловникова [26] удастся объединить на основе теории надежности.

## 5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПУТИ ПРОДЛЕНИЯ ЖИЗНИ

В соответствии с уравнением (4) для продления жизни необходимо снижать уровень генерации радикалов кислорода и повышать надежность защиты от них. Так, например, при калорийно-ограниченной диете, с помощью которой удается существенно продлить жизнь животным различных видов, от рыб до приматов, по-видимому, снижается общее потребление кислорода организмом [27]. Чем ниже потребление кислорода (параметр  $V$ ), тем меньше образуется радикалов  $O_2^{\cdot-}$  как побочных метаболитов дыхания. Привели к успеху эксперименты по продлению жизни мух путем усиления экспрессии ферментов СОД и каталазы [28]. В этом случае имеет место увеличение параметра  $E$  антиоксидантной защиты. Фибробласты человека совершают примерно не более 50 удвоений, а затем погибают либо мутируют в раковые клетки (так называемый “предел Хейфлика”). Удалось, однако, преодолеть этот предел на 20 и более удвоений путем введения в нормальные клетки гена, кодирующего теломеразу — фермент, достраивающий недорепарированные теломерные концы хромосом [29]. По нашей модели в этом случае существенно увеличивается допустимый порог накопления повреждений в “критических структурах” (параметр  $m_c$ ).

Рассмотрим с теоретико-надежностной точки зрения эксперименты по продлению жизни с помощью ингибиторов свободнорадикальных реакций перекисного окисления — так называемых антиоксидантов. Например, удалось продлить на 38% среднюю продолжительность жизни мышей с помощью эмоксипина (2-этил-6-метил-3-оксипиридин) [30]. Такой же эффект был достигнут в экспериментах с дрозофилами с помощью дибунла (он же — ионол, 4-метил-2,6-дитретбутилфенол, ВНТ) [6, 27]). В химических системах эти вещества действительно способны перехватывать активные радикалы кислорода. Маловероятно, однако, что в биосистемах они действуют по антиоксидантному механизму. Например, известно, что константы скоростей реакций антиоксидантов с радикалом  $O_2^{\cdot-}$  не превышают  $10^2 M^{-1}c^{-1}$ , что делает их просто неспособными конкурировать за  $O_2^{\cdot-}$  со специализированным антиоксидантным ферментом СОД, у которого эта константа около  $10^9 M^{-1}c^{-1}$ . Радикал  $OH^{\cdot}$ , который возникает в реакции  $O_2^{\cdot-}$  с  $H_2O_2$  в присутствии ионов металлов переменной валентности (реакция Фентона), является настолько сильным окислителем, что он реагирует с одинаково высокой константой скорости, близкой к диффузионному пределу ( $10^{10} \dots 10^{11} M^{-1}c^{-1}$ ) с любой органикой и, соответственно, в условиях клетки его просто невозможно перехватить никаким антиоксидантом. Отметим, что и многие другие представления “свободнорадикальной медицины” не выдерживают аналогичного химико-кинетического анализа (например, об антиоксидантном механизме действия природных “антиоксидантов” аскорбата и альфа-токоферола). Сомнения в антиоксидантном механизме действия “антиоксидантов” *in vivo* было высказано нами давно [17]. Аналогичные сомнения появились недавно и в зарубежной литературе [31].

Согласно уравнению (5) можно добиться увеличения продолжительности жизни путем повышения надежности работы ЭТЦ — понизив вероятность ( $q$ ) сбоя ЭТЦ, при которых возникают радикалы  $O_2^{\cdot-}$ . По-видимому, именно таким образом продлевает жизнь антиоксидант ВНТ. Было показано, что инъекции ВНТ крысам приводят к увеличению степени оксигенации митохондрий сердца [32]. Между тем, для тканей старых животных характерно состояние гипоксии. Известно также, что при гипоксии митохондрии сердца повреждаются, превращаясь в генераторы интенсивных потоков  $O_2^{\cdot-}$ , т. е. гипоксия приводит к снижению надежности работы митохондриальных ЭТЦ [21, 22]. Можно предположить, что ВНТ, повышая степень оксигенации митохондрий, предотвращает это нежелательное последствие гипоксии, повышая, фактически, значение параметра  $q$  надежности работы митохондриальных ЭТЦ. Таким образом, ВНТ действительно оказывает антиоксидантное действие, но делает это не путем прямого перехвата радикалов, а косвенно — снижая уровень их генерации в митохондриях. Поскольку при инъекциях ВНТ мы наблюдали возникновение спектра электронного парамагнитного резонанса нитрозильных комплексов гемоглобина в крови животных, то можно полагать, что действие этого и других антиоксидантов опосредовано через монооксид азота (NO) и гормональную регуляцию редокс-гомеостаза [32].



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сформулированный нами подход к проблеме старения живых систем основан на концепции генетически детерминированной надежности работы биосистем на всех уровнях организации. Первостепенное значение имеет ограниченная надежность работы митохондриальных электронно-транспортных цепей, при сбоях которых образуются супероксидные радикалы. Активные формы кислорода инициируют свободнорадикальные повреждения в ДНК и других биоструктурах, которые накапливаются с возрастом. Поскольку эти повреждения происходят на молекулярном уровне, то они имеют случайный характер и, в этом смысле, можно утверждать, что процесс старения имеет стохастический характер. Долговечность живых систем обеспечивается, прежде всего, профилактическим путем: предотвращение свободнорадикальных повреждений благодаря специализированным антиоксидантным ферментам, предотвращение отказов функциональных элементов благодаря непрерывной замене (“кругообороту”) белков, мембранных липопротеидов и др. Однако, поскольку надежность всех систем защиты и восстановления ограничена генетической программой, то ограничена и продолжительность жизни: она детерминирована “сверху” генетической программой. Таким образом, старение имеет детерминированно-стохастический характер: генетическая предопределенность надежности бимолекулярных конструкций и стохастическая реализация этой программы. Обобщенная таким образом свободнорадикальная теория объясняет, даже в рамках простой математической модели, основные количественные закономерности старения (“законы” Гомпертца и Рубнера) и согласуется с другими экспериментальными данными биогеронтологии. В ряде случаев кинетика смертности реальных популяций, например мух дрозофил, существенно отклоняется от простого гомпертцовского типа [33]. Очевидно, однако, что на той же принципиальной основе может быть построена более сложная модель, учитывающая функциональные взаимодействия между критическими структурами, изменения параметров во времени и другие “нелинейные” эффекты, которые необходимо принять во внимание для более адекватного математического описания онтогенеза и старения сложных систем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Azbel M. Y. Mortality invariants and their genetic implications // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — Vol. 95. — P. 9037–9041.
2. Гродзинский Д. М., Войтенко В. П., Кутлахмедов Ю. А., Кольтовер В. К. Надежность и старение биологических систем. — Киев: Наукова думка, 1987. — 172 с.
3. Koltover V. K. Reliability concept as a trend in biophysics of aging // J. Theor. Biol. — 1997. — Vol. 184. — P. 157–163.
4. Gavrilov L. A., Gavrilova N. S. J. The reliability theory of aging and longevity // J. Theor. Biol. — 2001. — Vol. 213. — P. 527–545.
5. Капитанов А. Б., Аксенов М. Ю., Татищев О. С., Кольтовер В. К. Культура клеток *Acholeplasma laidlawii* как объект для изучения возрастных изменений плазматических мембран // Докл. АН СССР. — 1985. — Т. 281. — № 1. — С. 186–189.
6. Harman D. Free radical theory of aging: History // Free Radicals and Aging. I. Emerit, B. Chance (Eds.). — Basel: Birkhauser, 1992. — P. 1–10.
7. Системы надежности клетки // Ред. Д. М. Гродзинский. — Киев: Наукова думка, 1977. — 168 с.
8. Надежность клеток и тканей // Ред. Д. М. Гродзинский. — Там же, 1980. — 211 с.
9. Надежность биологических систем // Ред. Д.М. Гродзинский, Ю. А. Кутлахмедов, И. Н. Гудков. — Там же, 1985. — 224 с.
10. Надежность и элементарные события процессов старения биологических объектов // Ред. Д.М. Гродзинский, Ю. А. Кутлахмедов. — Там же, 1986. — 208 с.
11. Надежность и гомеостаз биологических систем // Ред. Д.М. Гродзинский, Ю. А. Кутлахмедов. — Там же, 1987. — 192 с.
12. Базовский И. Надежность. Теория и практика. — М.: Мир, 1965. — 373 с.
13. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. — М.: Наука, 1977. — 336 с.
14. Блюменфельд Л. А., Кольтовер В. К. Трансформация энергии и конформационные переходы в митохондриальных мембранах как релаксационные процессы // Мол. биол. — 1972. — Т. 6. — С. 161–166.
15. Кольтовер В. К. Надежность ферментативной защиты клетки от супероксидных радикалов и старение // Докл. АН СССР. — 1981. — Т. 256. — № 1. — С. 199–202.
16. Кольтовер В. К. Надежность ферментных систем и молекулярные механизмы старения // Биофизика. — 1982. — Т. 27. — С. 614–617.
17. Кольтовер В. К. Надежность электрон-транспортных мембран и роль анион-радикалов кислорода в старении. Дисс. ... д-ра биол. наук / Ин-т физиол. им. А. А. Богомольца АН Украины. — Киев, 1987. — 351 с.
18. McCord J. M. Superoxide dismutase in aging and disease: An overview // Superoxide Dismutase. Meth. Enzymol. — 2002. — Vol. 349. — P. 331–341.
19. Кольтовер В. К. Исторические предпосылки и эволюция свободнорадикальной теории старения // Проблемы старения и долголетия. — 2000. — Т. 9. — № 1. — С. 78–89.
20. Skulachev V. P. The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology // Exp. Gerontol. — 2001. — Vol. 36. — № 7. — P. 995–1024.
21. Nohl H., Koltover V., Stolze K. Ischemia/reperfusion impairs mitochondrial energy conservation and triggers CO<sup>•+</sup> release as a byproduct of respiration // Free Radical Res. Comms. — 1993. — Vol. 18. — P. 127–137.
22. Кольтовер В. К. Надежность митохондриальных электрон-транспортных мембран и роль супероксидных радикалов в старении // Хим. физика. — 1996. — Т. 15. — С. 101–106.
23. Terman A., Brunk U. T. Myocyte aging and mitochondrial turnover // Exp. Gerontol. — 2004. — Vol. 39. — P. 701–705.
24. Кольтовер В. К., Андрианова З. С., Иванова А. Н. Моделирование кривых выживания и смертности популяций человека на основе теории надежности // Изв. РАН. Сер. биол. — 1993. — № 1. — С. 121–129.
25. Barzilai N., Shuldiner A. R. Searching for human longevity genes: The future history of gerontology in the post-genomic era // J. Gerontol. — 2001. — Vol. 56. — P. M83–M87.
26. Olovnikov A. M. Telomeres, telomerase, and aging: Origin of the theory // Exp. Gerontol. — 1996. — Vol. 31. — P. 443–448.
27. Фролькис В. В., Мурадян Х. К. Экспериментальные пути продления жизни. — Л.: Наука, 1988. — 248 с.
28. Mockett R. J., Bayne A. C. V., Kwong L. K., et al. Ectopic expression of catalase in *Drosophila* mitochondria increases stress resistance but not longevity // Free Radocal Biol. Med. — 2003. — Vol. 34 — P. 207–217.
29. Bodnar A. G., Ouellette M., Frolkis M., et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells // Science. — 1998. — Vol. 279. — P. 349–352.
30. Обухова Л. К. Вклад академика Н. М. Эмануэля в развитие отечественной геронтологии: свободнорадикальные механизмы в процессе старения // Успехи геронтологии. — 1999. — Т. 3. — С. 27–31.
31. Azzi A., Davies K., Kelly F. Free radical biology — terminology and critical thinking // FEBS Lett. — 2004. — Vol. 558. — P. 3–6.
32. Koltover V. K. The antihypoxic action of antioxidant BHT mediated via nitric-oxide: A study of EPR signals in tissues of rats of different ages // J. Amer. Aging Ass. — 1995. — Vol. 18. — P. 85–89.
33. Arking R., Buck S., Novoselov V. N., et al. Genomic plasticity, energy allocations, and the extended longevity phenotypes of *Drosophila* // Aging Res. Revs. — 2002. — Vol. 1. — P. 209–228.

☎ (096) 522-25-81

E-mail: koltover@icp.ac.ru

