

УДК 577. 34 + 612.6

## ХИМИЧЕСКИЕ ГЕРОПРОТЕКТОРЫ И ПРОБЛЕМА УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

*Л. К. Обухова*

Систематизированы и проанализированы литературные сведения о применении геропротекторов — химических веществ, используемых в экспериментальной геронтологии для увеличения продолжительности жизни и в целях замедления темпа старения. Предполагаемые механизмы старения рассматриваются только в связи с особенностями действия геропротекторов. Библиография — 100 ссылок.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение . . . . .	1914
II. Биологическая активность геропротекторов . . . . .	1915
III. Сравнительная оценка эффективности . . . . .	1918

### I. ВВЕДЕНИЕ

Современная геронтология предпринимает практические шаги к изысканию средств, замедляющих процесс старения<sup>1-3</sup>. Экспериментальная геронтология стремится к разработке таких методов воздействия на процесс старения, которые позволяли бы изменить биологический предел долголетия, на который не может существенно повлиять прогресс в медицине и улучшение условий жизни. Увеличение длительности жизни посредством замедления роста и развития, подобное тому, которое было достигнуто в опытах Мак-Кея с сотр.<sup>4</sup> на крысах, получавших недостаточное питание, очевидно неприемлемо для людей. Это побудило начать поиски других возможностей продления жизни. Первые обнадеживающие экспериментальные результаты по использованию химических веществ для замедления старения были получены в конце 50-х годов, к тому же времени относится начало теоретических разработок этого вопроса<sup>5-8</sup>. Химические вещества и их смеси, используемые в целях увеличения продолжительности жизни, принято называть геропротекторами.

В Институте химической физики АН СССР по инициативе академика Н. М. Эмануэля в 50-х годах было начато комплексное изучение биологической активности ингибиторов радикальных реакций.

Оказалось плодотворным предположение, что при развитии некоторых патологий (лучевая болезнь, злокачественный рост), в процессе старения и при нарушениях, вызываемых взаимодействием с окружающей средой, большое значение имеют свободно-радикальные процессы. Это предположение способствовало успешному поиску биологически-активных веществ, в том числе и геропротекторов, среди антирадикальных препаратов.

Настоящий обзор не претендует на исчерпывающую полноту. Сознательно опущен большой материал по применению геропротекторов для замедления процессов старения клеточных культур, обсуждение которо-

го потребовало бы анализа специфических механизмов старения клетки вне организма. Интересующиеся этой проблемой найдут в обзоре ссылки на оригинальные статьи.

## II. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ

В табл. 1 суммированы сведения о биологической активности химических веществ, увеличивающих продолжительность жизни лабораторных животных.

Конкретные проявления старения очень разнообразны, но все они отражают дезорганизацию жизненных функций органов и тканей. Старение организма часто рассматривается как следствие накопления молекулярных повреждений в клетках и прежде всего в генетическом материале<sup>30</sup>. Представления о повреждающем действии свободных радикалов удовлетворяют несольким, на первый взгляд несовместимым, гипотезам о биологическом проявлении старения.

Свободные радикалы играют существенную роль как в нормальных, так и в патологических процессах жизни. Они обнаружены в различных тканях, субклеточных структурах и в изолированных ферментных системах. Установлено, что свободные радикалы являются активными промежуточными субстратами окислительно-восстановительных процессов. Предполагается, что около 60% суммарной концентрации свободных радикалов в клетке, регистрируемых методом ЭПР, связано с процессами переноса электрона по дыхательной цепи митохондрий и с образованием радикалов семихинонного типа<sup>31</sup>.

Свободно-радикальные состояния в других клеточных органеллах изучены недостаточно полно. Около 20% суммарной концентрации свободных радикалов, вероятно, локализуется в микросомах, где осуществляется не связанное с фосфорилированием окисление различных чужеродных соединений и их детоксикация<sup>32, 33</sup>. Между количеством свободных радикалов и метаболической активностью ткани установлена корреляция<sup>32, 34</sup>. Другим источником свободных радикалов являются процессы неферментативного окисления органических молекул, в основном липидов. Витамин Е, аскорбиновая кислота и другие природные антиоксиданты регулируют нормальный уровень этих процессов в клетке. Искусственно создаваемые благоприятные для процессов неферментативного окисления условия (облучение, избыточная оксигенация) приводят к патологическим состояниям<sup>35</sup>. Так, при увеличении количества и степени ненасыщенности жиров в рационе время жизни мышей СЗН сокращалось и возрастила частота заболеваний раком молочной железы, что, возможно, связано с образованием токсичных перекисей липидов. Введение в диету  $\alpha$ -токоферола предотвращало эти явления<sup>36</sup>.

В литературе обсуждается возможность интенсификации свободно-радикальных реакций при старении, но систематические исследования в этом направлении не предпринимались. Концентрация свободных радикалов в органах мышей и крыс разного возраста изучена в работе<sup>37</sup>; ее максимальное значение зарегистрировано на 12 и 43 сутки жизни животного, т. е. в период роста, а затем наблюдалось монотонное уменьшение. При сравнительном изучении органов молодых (4 мес.) и старых (2 года) крыс линии «Вистар» было обнаружено возрастное увеличение концентрации свободных радикалов в печени и крови<sup>38</sup>. В ткани головного мозга 30-месячных крыс концентрация свободных радикалов была больше, чем у 10 месячных животных<sup>39</sup>.

Многочисленные опытные данные свидетельствуют о том, что в процессе старения изменяются физико-химические свойства и функциональные характеристики информационных молекул ДНК и РНК<sup>30, 40-43</sup>.

ТАБЛИЦА 1

## Биологические свойства геропротекторов

2,6-ди-трит-бутил-4-метилфенол (ионол)	пищевой антиоксидант <sup>9</sup> , радиопротектор <sup>10</sup> , обладает антилейкемическим и антиканцерогенным действием <sup>11-14</sup> , индуктор микросомальных ферментов печени <sup>14,15</sup> , понижает частоту хромосомных aberrаций <sup>16</sup> радиопротектор
2-меркаптоэтиламин Витамин Е	биогенный антиоксидант, понижает частоту хромосомных aberrаций <sup>16</sup>
2,2,4-триметил-6-этокси-1,2-дигидрохинолин	пищевой антиоксидант, индуктор микросомальных ферментов печени <sup>15</sup> , обладает антиканцерогенным действием <sup>13</sup>
Нор-дигидрогваяретовая кислота	антиоксидант, индуктор микросомальных ферментов печени <sup>15</sup>
2-этил-6-метил-3-оксипиридин·HCl Диметил-аминоэтил- <i>p</i> -Cl-феноксиацетат (меклофеноксат) Диметиламиноэтанол Салицилаты <i>L</i> -3,4-диоксифенилаланин	радиопротектор <sup>10</sup> , антиоксидант <sup>17</sup> препятствует накоплению липофусцина <sup>18</sup> , стабилизатор биомембран <sup>19</sup> стабилизаторы биомембран <sup>19</sup> стабилизаторы биомембран <sup>19</sup> промежуточный продукт биосинтеза адреналина, используется при лечении болезни Паркинсона <sup>20</sup>
Этилендиаминотетрауксусная кислота, На-соль $\beta$ -Аминопропионитрил Кортикостероиды	препятствует образованию перекрестных связей в макромолекулах <sup>21</sup> то же (цит. по <sup>2</sup> ) индукторы биосинтеза белка, стабилизаторы биомембран <sup>19</sup> , стимуляторы пролиферации клеточных культур <sup>22-24</sup>
$\beta$ -Дизтиламиноэтиловый эфир <i>p</i> -амино-бензойной кислоты (прокайн)	активное начало гериатрического средства «Геровиталь НЗ», стимулятор пролиферации клеточных культур <sup>27</sup>
Экстракты женьшения и элеутерококка	влияют на секреторную функцию коры надпочечников и равновесие стероидных гормонов <sup>25</sup> , антиоксиданты, стимуляторы деления клеток <sup>26</sup>
Комплекс «фолцистин U»	реактивирует некоторые ферментные системы, активность которых уменьшается с возрастом, влияет на отношение SH/SS <sup>28</sup> используются в гериатрической практике, нормализуют метаболические процессы, стимулируют регенерацию, гемопоэз <sup>29</sup>
Поливитаминные комплексы «декамевит», «геротон», «амивит»	

Высокореакционные свободные радикалы типа  $RO\cdot$  и  $RO_2\cdot$  могут играть роль агрессивных факторов. Экспериментально доказано образование *in vivo* перекисей липидов и нестабильных низкомолекулярных продуктов радикального окисления, которые могут модифицировать биоструктуры, вызывая, в частности, уменьшение матричной активности ДНК (цит. по<sup>30</sup>). Радикальные процессы окисления липидных компонентов могут быть причиной нарушения целостности мембран субклеточных частиц. Лизосомы присутствуют в цитоплазме практически всех типов животных клеток; они содержат гидролитические энзимы, которые участвуют в процессах переваривания балластных веществ, лизисе мертвых клеток и т. п. Повреждение лизосомальной мембранны *in vivo* может привести к выходу ферментов лизосом в цитоплазму и к распаду ее белковых структур, повреждению многих важных компонент клетки, усилинию процессов катаболизма и стимуляции образования соединительной ткани<sup>19</sup>. Предполагается, что накопление в клетках старческого пигмента липофусцина также связано с деструкцией лизосом<sup>44</sup>.

В клетках старых животных и в клетках диплоидных культур в фазе деградации обнаружены неактивные ферменты<sup>45-47</sup>, т. е. молекулы, со-

хранившие специфическую структуру, но утратившие катализитические свойства. Причиной появления неактивных ферментов могут быть структурные дефекты матрицы, ослабление контроля ядерной ДНК над синтезом РНК<sup>40</sup> и постсинтетическая модификация белков ферментами лизосом или свободными радикалами.

О влиянии антирадикальных препаратов на уровень окислительно-восстановительных реакций в тканях организма можно судить по изменению величины антиокислительной активности (АОА) липидов, которая характеризует способность липидной вытяжки противостоять окислению и обеспечивается наличием природных антиоксидантов. Измерение антиокислительной активности липидов печени мышей в процессе старения показало, что эта величина монотонно уменьшается с возрастом и скорость ее изменения неодинакова для различных линий животных<sup>48</sup>. При лучевой болезни, стрессовых состояниях (голодание, переохлаждение), отравлениях наблюдается, как и в случае старения, уменьшение величины АОА. Развитие этих процессов может быть заторможено и даже предотвращено введением веществ, увеличивающих уровень антиокислительной активности. Природные и синтетические антиоксиданты (токоферол, ионол, 2-этил-6-метил-3-оксипиридин), некоторые гормоны (гидрокортизон, адреналин), препараты из класса неспецифических адаптогенов (элеутерококк), обладают способностью изменять уровень АОА липидов тканей, т. е. прямо или опосредованно влияют на интенсивность радикальных окислительных процессов в организме<sup>49–53</sup>.

К проблеме продления жизни относится возможность предотвращения или эффективного замедления разнообразных нежелательных отклонений, которые неизбежно возникают в живом организме, а также профилактики и ликвидации патологических состояний. Увеличение частоты заболеваний в пожилом возрасте, возможно связанное с активацией латентных вирусов, рассматривается как одно из проявлений старения<sup>54</sup>. Эффективные геропротекторы — антиоксиданты (ионол и этоксихин) — обладают комплексом положительных свойств: антиканцерогенной активностью<sup>12–14</sup>, способностью препятствовать накоплению хромосомных aberrаций<sup>16</sup>, антилейкемическим действием<sup>11</sup>. Ионол используется для лечения опухолей мочевого пузыря, лучевых и трофических поражений кожи<sup>56, 57</sup>.

Хорошо известно, что с возрастом повышается токсическое действие химических агентов и лекарств. В работе<sup>15</sup> исследовалось влияние ионола, *нор*-дигидрогвайретовой кислоты, пропилгаллата и этоксихина на активность окислительных ферментных систем микросом печени, метаболизирующих чужеродные химические соединения, лекарства, яды и т. д. Введение этоксихина в пищу крысам в возрасте 81—440 дней увеличивало вдвое энзиматическую активность микросомной фракции; несколько меньшей индуцирующей способностью обладали ионол и *нор*-дигидрогвайретовая кислота; пропилгаллат, не проявлявший свойств индуктора, не увеличивал длительность жизни крыс. Предварительное введение крысам этоксихина уменьшает токсическое действие  $CCl_4$ , увеличивая скорость его превращения в  $CO_2$ <sup>58</sup>. Возможно, что индуцирование детоксицирующей ферментной системы микросом является молекулярным механизмом мобилизации защитных сил организма против вредного воздействия химических компонент окружающей среды.

Совокупность положительных свойств, которыми обладают антирадикальные препараты, может служить основанием для разработки в дальнейшем лекарственных составов в целях замедления темпа старения человека.

### III. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ

Широкое использование лабораторных грызунов для изучения старения свидетельствует о допущении определенной степени сходства процессов старения у этих видов и у человека. Для оценки скорости процесса старения и эффективности действия геропротекторов используются показатели смертности популяции. Обычно анализируются следующие характеристики: средняя и максимальная продолжительности жизни; «медиана», т. е. возраст при смертности, равной 50%; закон распределения частоты смертей; относительная скорость смертности, связанная с возрастом логарифмической зависимостью (показатель Гомпертца); длительность «ожидающей жизни»<sup>59</sup>.

Корректное изучение закономерностей выживаемости лабораторных грызунов возможно при использовании не менее 800—1000 животных. В работе<sup>60</sup> около 3000 мышей линии SAS/4 обоего пола наблюдались от рождения до смерти. Средняя продолжительность жизни самцов и самок не различалась и составляла 103,8 недели. Соотношение Гомпертца соблюдалось в периоде времени 50—100 недель, в более позднем возрасте показатель смертности возрастает медленнее. Для полного описания кривой выживаемости применима логистическая функция вида:

$$\mu = 122 \cdot 10^{-5} + \frac{3,3 \cdot 10^{-5} e^{0,0632t}}{1 + 23 \cdot 10^{-5} e^{0,0632t}},$$

где  $\mu = -\frac{1}{n} \cdot \frac{dn}{dt}$  — относительная скорость смертности,  $n$  — число живых особей в возрасте  $t$ . Распределение времен жизни было асимметричным.

В течение 5 лет продолжалось изучение выживаемости лабораторных крыс *Sprague-Dowley*<sup>61</sup>; 747 животных были использованы в 18 опытах, из которых 7 проводились в безмикробной среде, остальные — в обычном виварии при тщательном соблюдении чистоты и постоянства условий обитания. Значения средней продолжительности жизни практически совпадали во всех опытах, усредненная величина равна  $692 \pm 22$  дням. Анализ частоты распределения смертей показал, что по сравнению с нормальным распределением имеется избыток короткоживущих особей. Для старых крыс в возрасте 800—950 дней длительность ожидаемой жизни остается постоянной и относительная скорость смертности уменьшается. Уменьшение показателя Гомпертца в два раза в возрасте 1060 дней по сравнению с возрастом 450 дней наблюдали также для мышей — гибридов CAF<sub>1</sub><sup>62</sup>.

В большинстве экспериментальных работ обычно используются группы по 100 и менее животных; это приводит к значительной разнице показателей выживаемости для животных одинаковых линий, изученных в разных лабораториях, и даже в одной и той же лаборатории, но в разное время. В табл. 2 приведены данные о выживаемости мышей 8 инбредных линий и 8 гибридных групп первого поколения, одной неинбредной линии мышей (CD-1) и крыс *Sprague-Dowley*. Сравнительный анализ данных, приведенных в табл. 2, позволяет сделать следующие выводы: 1) продолжительность жизни мышей-самцов на 10—12% больше, чем самок, хотя известны исключения<sup>67, 68</sup>; 2) длительность жизни гибридов первого поколения больше, чем у мышей родительских линий; 3) величина средней продолжительности жизни близка к значениям медианы, т. е. оба эти параметра могут быть использованы в равной мере; 4) наибольшие различия в длительности жизни наблюдаются для инбредных линий 129 и AKR (2,7 раза); 5) величины средней продолжительности

ТАБЛИЦА 2

## Длительность жизни лабораторных грызунов

Линия животных	Пол, кол-во живых животных	Медиана, недели	Длительность жизни, недели		Ссылки на литературу
			средняя $\pm$ s.e. *	максимальная	
LP	самцы, 77 самки, 51	107 102	103 $\pm$ 2,6 99 $\pm$ 2,7	142 127	63
129	самцы, 54 самки, 95	126 111	117 $\pm$ 4,2 104 $\pm$ 3,1	154 148	63
DBA/2	самцы, 67 самки, 51	86 85	82 $\pm$ 3,7 81 $\pm$ 3,2	125 118	63
CBA	самцы, 17 самки, 33	111 94	107 $\pm$ 3,9 91 $\pm$ 2,9	125 116	63
C57BL/10	самцы, 39 самки, 35	124 104	118 $\pm$ 4,1 99 $\pm$ 4,4	165 141	63
C3H	самцы, 29	112	113 $\pm$ 5,3	157	63
C3H·K	самцы, 25	115	104 $\pm$ 5,0	131	63
(LP $\times$ 129) F <sub>1</sub>	самцы, 54 самки, 77	120 118	122 $\pm$ 3,1 118 $\pm$ 2,5	169 158	63
(LP $\times$ DBA/2) F <sub>1</sub>	самцы, 42 самки, 43	123 95	121 $\pm$ 4,4 93 $\pm$ 3,7	163 152	63
(129 $\times$ DBA) F <sub>1</sub>	самцы, 47 самки, 58	139 119	135 $\pm$ 4,0 119 $\pm$ 3,2	186 169	63
(CBA $\times$ C57BL/10) F <sub>1</sub>	самцы, 40 самки, 29	126 104	142 $\pm$ 0,7 141 $\pm$ 0,9	143 142	63
(LP $\times$ C57BL/10) F <sub>1</sub>	самцы, 42 самки, 48	130 120	125 $\pm$ 3,9 123 $\pm$ 3,4	185 176	63
(A $\times$ C57BL/10) F <sub>1</sub>	самцы, 42 самки, 72	116 127	117 $\pm$ 3,3 125 $\pm$ 2,7	152 186	63
(CBA $\times$ C3H·K) F <sub>1</sub>	самцы, 24	111	109 $\pm$ 3,7	133	63
(C3H $\times$ C3H·K) F <sub>1</sub>	самцы, 36	122	120 $\pm$ 2,7	147	63
CBA/J	самцы, 73 самки, 75	— —	75,0 $\pm$ 2,5 75,0 $\pm$ 2,0	— —	64
DBA/2	самцы, 75 самки, 80	— —	101 $\pm$ 3,2 102 $\pm$ 3,0	— —	64
129/J	самцы, 79 самки, 78	— —	97 $\pm$ 2,9 92 $\pm$ 3,2	— —	64
C57BL/6J	самцы, 74 самки, 75		96,5 $\pm$ 2,9 99 $\pm$ 2,9	— —	64
AKR/J	самцы, 39 самки, 72	— —	46,5 $\pm$ 2,0 39,4 $\pm$ 1,2	— —	64
C3H	самцы, 40 самки, 40	— —	78,7 $\pm$ 3,4 77,3 $\pm$ 4,7	101,5 103,0	65
CD-1 **	самки ***, 86 самки, 86	74,3 99,5	74,5 92,8	— —	66
Крысы Sprague—Dawley	самцы	— 101	108 —	172 167	цит по *1.
То же	?	—	99 $\pm$ 31	—	61

\* s.e.—стандартная ошибка.

\*\* Неинбридерная линия.

\*\*\* Безмикробные условия.

жизни, полученные в разных лабораториях, различаются для линий 129, DBA/2 и генетически-близких C57BL/6 и C57BL/10 приблизительно на 20%, для СВА и СЗН — на 40%. При изучении выживаемости мышей-самок C57BL, проведенном в четырех независимых опытах в одной лаборатории, было найдено, что значения медианы и максимальной продолжительности жизни различаются на 34 и 17%, причем немаловажно, из какого источника получены животные<sup>63</sup>.

При выборе объекта исследования для длительных опытов на выживаемость, по-видимому, следует отдать предпочтение инбрейдным линиям с устойчивым генотипом: 129, СВА, C57BL, СЗН, СЗНА, LP, BALB/c, SWR, для которых установлена низкая частота заболеваний злокачественными опухолями<sup>61, 63, 68, 70</sup> или гибридам первого поколения. Пре-

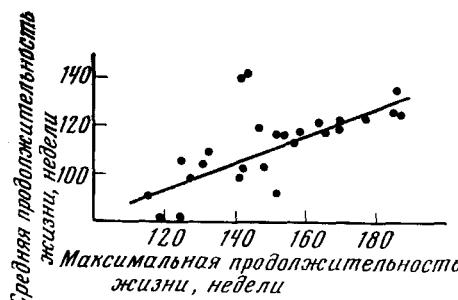


Рисунок. Линия регрессии для величин средней и максимальной продолжительности жизни мышей, по данным работы<sup>63</sup>.

имущества генетики не очевидны: иногда наблюдается уменьшение длительности жизни животных в безмикробных условиях<sup>66, 71—73</sup>. Так как средняя продолжительность жизни существенно зависит от факторов окружающей среды и питания, то следует считать, что используемые в качестве геропротекторов химические вещества только в том случае действительно замедляют процесс старения, если наблюдается удлинение максимальной продолжительности жизни по сравнению с контрольной группой животных той же породы. Обработка количественных данных по выживаемости мышей разных инбрейдных линий и гибридных групп первого поколения<sup>63</sup> показала, что существует линейная связь между величинами средней и максимальной продолжительности жизни в оптимальных условиях существования (рисунок). Уравнение регрессии имеет вид:  $y = 24,6 \pm 0,57 x$ , коэффициент корреляции  $r = 0,85 \pm 0,055$ . Наличие такой зависимости означает, что при замедлении старения следует ожидать уменьшения показателей смертности для всей популяции, что приведет к перемещению кривой выживаемости вправо.

Принципиальная возможность увеличения длительности жизни лабораторных животных при использовании некоторых химических веществ в качестве небольших пищевых добавок была продемонстрирована впервые в работах<sup>5, 6, 8</sup>. При применении соединений из класса ингибиторов радикальных реакций, обладающих свойствами радиопротекторов и антиоксидантов (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол, аммонийдиэтилдитиокарбамат, 2,2,4-триметил-6-этокси-1,2-дигидрохинолин,  $\alpha$ -токоферол) и добавляемых к рациону в количестве 0,25—1 вес. %, выживаемость в подопытных группах через 20 месяцев составляла 61,66, 74 и 13% по сравнению с 9% в контроле<sup>74</sup>.

Результаты последующих работ объединены в табл. 3. Увеличение средней и максимальной продолжительности жизни варьирует в пределах 13—50% и 11—58%. Действие наиболее эффективных химических соединений сравнимо с результатами, достигнутыми в работах Мак-

ТАБЛИЦА 3  
Влияние химических геропротекторов на длительность жизни лабораторных грызунов

Соединения	Доза	Линия животных, пол, возраст в начале опыта	Разница относительно контроля, %		Ссылки на литературу
			средняя продолжительность жизни	максимальная продолжительность жизни	
2 - Мерокапроэтиламин · HCl »	0,5 вес. % 1,0 »	мыши-самцы LAF <sub>1</sub> »	12,8 29,0	— —	75
2,6 -ди-трет-бутил-4-метилфенол (ионол) »	0,25 вес. % 0,5 »	мыши-самцы LAF <sub>1</sub> »	17,6 44,6	— —	75
2,2,4-триметил-6-этокси-1,2-дигидрохинолин (этоксихин)	0,5 вес. % »	мыши-самцы СЗН; 3 мес. мыши-самки СЗН; 3 мес.	18,0 20,0	25,0 26,0	3,65
ЭДТА, Na <sub>2</sub> -соль	50 мг/день	крысы-самки; 320±10 дней	18,7	—	76
Диметиламиноэтил- <i>p</i> -Cl-феноксиасетат (меклофеноксат)	60 мг/кг	мыши-самцы Swiss 3,6 мес.	27,3	26,3	77
Диметиламиноэтанол	7 мг/кг	мыши-самцы A/J. 604—664 дня	49,5	10,9	78
<i>L</i> -3,4-диоксифенилаланин	40 мг/г пищи	мыши-самцы Swiss 4—5 недель	34,0 *	—	79
2-этил-6-метил-3-оксипиридин · HCl «	1,5 мг/день 3 и 6 мг/день	мыши-самки SHK; 2 мес. мыши-самки SHK; 8—8,5 мес.	34,0 23,2	12,5 58,0	80 80
Экстракты женьшеня и элеутерококка	—	белые крысы	21 и 16	—	26
Поливитаминные комплексы: «декамевит» «геротон» и «витавит» комплекс полимикроэлементов	— — —	крысы » »	3,3 43,3 23,3	— — —	81 81 81

\* В возрасте 18 месяцев.

Кея<sup>4</sup>, который использовал длительное частичное голодание молодых крыс в качестве фактора, замедляющего их рост и развитие и приводящего к увеличению длительности жизни. В опытах 1934 года продолжительность жизни отдельных подопытных особей на 78% превосходила максимальную продолжительность жизни в контроле. В повторных экспериментах увеличение длительности жизни колебалось от 22 до 32%. Никитин с сотрудниками<sup>82</sup>, воспроизведя опыты Мак-Кея, нашли, что средняя продолжительность жизни подопытных животных увеличилась на 39%, а максимальная — на 47%.

Несмотря на то что поиск химических средств, замедляющих процесс старения, как научное направление, существует около 20 лет, перечень активных соединений насчитывает не более двадцати наименований. Основная причина медленного развития этой области заключается в незнании первичных причин и механизмов старения. При подборе геропротек-

торов в большинстве случаев экспериментаторы вынуждены опираться только на более или менее правдоподобные гипотезы. Преимущественное использование лабораторных грызунов делает опыты длительными, дорогостоящими и трудоемкими, их результаты нельзя предвидеть, пока не будут получены данные о смертности контрольной группы животных.

В ряде исследований предприняты попытки разработать биологические методы, позволяющие контролировать скорость старения не только по показателям смертности. Предлагается несколько тестов для характеристики биологического возраста крыс. При ускорении темпа старения посредством фракционного рентгеновского облучения сопоставление календарного и биологического возраста предложенной авторами методикой показало, что подопытная группа была «старше» соответствующей контрольной. Обратная картина наблюдается при замедлении скорости старения, что достигается периодическим скармливанием  $\text{Na}_2\text{-ЭДТА}$ <sup>76, 83, 84</sup>. Интересны и перспективны фундаментальные работы<sup>85, 86</sup>, в которых изучаются в качестве биохимического выражения старения возрастные изменения индукции ферментов.

Кроме лабораторных грызунов, для изучения процесса старения и отбора геропротекторов часто используются популяции плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Ее использование имеет определенное преимущество в том отношении, что в тканях взрослого насекомого нет делящихся клеток, т. е. смерть организма совпадает со смертью клеток. Длительность жизни взрослого насекомого зависит от условий среды, плотности популяции и скорости преимагинального развития<sup>44, 87, 88</sup>. Средняя продолжительность жизни для разных штаммов существенно различается: у короткоживущих мутантных линий  $\text{Hk}^{19}$  и  $\text{Sh}^5$  она равна 40 дням<sup>89</sup>, для диких видов почти вдвое больше<sup>19</sup>. Чем старше родители, тем короче средняя и максимальная длительность жизни потомков. Длительность жизни гибридов второго поколения незначительно меньше, чем гибридов  $F_1$ <sup>90</sup>. Можно использовать гибриды  $F_2$  в тех случаях, когда в опыте требуется большая начальная популяция из особей, имеющих одинаковую продолжительность жизни.

Как и в случае лабораторных грызунов, замедление старения должно привести к уменьшению смертности во всей популяции, к увеличению максимального времени существования и сдвигу всей кривой смертности вправо. Из 38 соединений разных классов, которые прибавлялись к различной концентрации к питательной среде, положительным действием обладали немногие (табл. 4). Большинство испытанных соединений выбиралось по их известной или предполагаемой способности стабилизировать клеточные мембранны или мембранны лизосом против распада *in vivo* и *in vitro*<sup>91</sup>. Достоверное удлинение средней продолжительности жизни самцов достигнуто под влиянием кортикостероидов, производных салициловой кислоты и меклофеноксата. Наибольшее увеличение максимального времени жизни (42%) достигнуто при использовании смеси салицил-салициловой кислоты с аспирином.

Процедуру отбора биологически-активных веществ, замедляющих старение, можно значительно ускорить, если использовать популяции микроскопических многоклеточных животных нематод (*Caenorhabditis briggsae*) и коловраток (*Bdelloid rotifer*)<sup>93-98</sup>, длительность жизни которых близка к одному месяцу, техника культивирования проста, и массовое содержание не требует больших затрат. Присутствие в культуральной среде  $\alpha$ -токоферилхинона замедляло процесс старения нематод, возраст которых в начале опыта был равен 1 дню, и увеличивало на 30% среднюю продолжительность жизни. Положительного действия не наблюдалось, если возраст животных равнялся 20 дням, так как воз-

ТАБЛИЦА 4  
Влияние химических геропротекторов на длительность жизни *Drosophila melanogaster*<sup>19, 92</sup>

Соединения	Доза, мг/100 мл среды	Линия животных, пол	Разница относительно контроля, %	
			средняя продолжи- тельность жизни	максималь- ная про- должи- тельность жизни
Гидрокортизонацетат	10	( <i>Canton S</i> × <i>Oregon 2S</i> )F <sub>1</sub>	38	16
		{ самцы { самки	21	18
Кортизонацетат	18,8	<i>Canton S</i> самцы	43	31
		{ самки { самцы	18 21	13 21
Дезоксикортистеронацетат	0,5	{ самки { самцы	18 19	5 16
		{ самцы { самки	18 19	5 16
Триамсинолон (16 $\alpha$ -метил-9 $\alpha$ -фторгидрокортизон)	4	( <i>Canton S</i> × <i>Oregon RS</i> )F <sub>1</sub>	22	27
		{ самцы { самки	13	16
Аспирин	250	самцы	24	18
		самки	38	42
Смесь салицил-салициловая кислота — аспирин (3 : 1)	490	{ самцы { самки	17 12	22 27
		»	162	
Салициламид	650	{ самцы { самки	7 39	15 23
		Меклофеноксат	30	—
Ионол	0,001%	{ самцы { самки	16	—
		Бутил-окси-анизол (ВНА)	12	—
	0,001%	самцы	5	—
	0,01%	самки		

никали необратимые возрастные изменения<sup>99</sup>. Влияние на длительность жизни коловратки ингибиторов биосинтеза белка, антиметаболитов и цитостатиков изучено в работе<sup>100</sup>. Замедляющим старение действием обладали ингибиторы биосинтеза: актиномицин D, стрептомицин, акридин-оранж, тетрациклин, хромомицин-А<sub>3</sub>.

\*      \*

Прогресс в этой области экспериментальной геронтологии зависит от успехов науки в понимании основных механизмов старения. Ближайшей насущной задачей является объединение поисков веществ, «способных защищать клетки от старческих изменений, подобно тому, как это происходит при ограничении рациона»<sup>87</sup>, с усовершенствованием методов регистрации скорости старения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. N. Emanuel, Ideen des exakten Wissen., 6, 456 (1973).
2. A. Комфорт, Сб. Старение клетки, Ежегодник «Геронтология и гериатрия», Киев, 1970.
3. A. Comfort, Ned. T. Ceront., 2, 82 (1971).
4. C. M. McCay, L. A. Maynard, G. Sperling, L. L. Barnes, J. Nutrition, 18, 1 (1939).

5. D. Harman, J. Gerontol., 11, 298 (1956).
6. D. Harman, Там же, 12, 257 (1957).
7. A. L. Tappel, H. Zalkin, Arch. biochem. Biophys., 30, 333 (1959).
8. N. P. Вии-Нои, A. R. Ratsimamanga, C. rend. Soc. biol. Paris, 153, 1180 (1959).
9. Н. М. Эмануэль, Ю. Н. Лясковская, Торможение процессов окисления жиров, Пищепромиздат, М., 1961.
10. Е. Б. Бурлакова, В. Д. Гаинцева, Л. В. Слепухина, Н. Г. Храпова, Н. М. Эмануэль, ДАН, 155, 1398 (1964).
11. Н. М. Эмануэль, Л. М. Дронова, Н. П. Коновалова, З. К. Майзус, И. П. Скибида, ДАН, 152, 481 (1963).
12. О. С. Франкфурт, Л. П. Липчина, Т. В. Бунто, Н. М. Эмануэль, Бюлл. экс. биол., мед., 8, 86 (1967).
13. L. W. Wattenberg, J. Natl. Cancer Inst., 48, 1425 (1972).
14. Н. М. Эмануэль, А. Н. Саприн, Т. С. Шуляковская, Л. Е. Козлова, Т. В. Бунто, ДАН, 209, 1449 (1973).
15. R. Walker, A. Rahim, D. V. Parce, Proc. Roy. Soc. Med., 66, 780 (1973).
16. R. J. Shamberger, F. F. Baughman, S. L. Kalchert, C. E. Wills, G. C. Hoffman, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 1461 (1973).
17. Л. Д. Смирнов, С. И. Шолина, К. Е. Круглякова, К. М. Дюмаев, Изв. АН СССР, сер. хим., 1963, 890.
18. K. Nandy, J. Gerontol., 23, 82 (1968).
19. R. Hochschild, Exp. Geront., 6, 133 (1971).
20. Н. Н. Аносов, 9-й Международный Конгресс геронтологов, 2, Киев, 1972, стр. 134.
21. Т. Л. Дубина, В кн. Обмен и функция стареющего организма, «Наука и техника», Минск, 1969.
22. A. Macieira-Coelho, Experientia, 22, 390 (1966).
23. R. Hochschild, J. Gerontol., 28, 450 (1973).
24. A. Macieira-Coelho, E. Loria, Nature, 251, 67 (1974).
25. О. И. Кириллов, Автограф. кандид. диссерт., Томск, 1964.
26. И. И. Брехман, В. Г. Голотин, А. И. Добрякова, С. Е. Ли, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 838.
27. Г. Иеремия, А. Аслан, Л. Балан, Ж. Брюхер, Т. Харалашиби, Там же, 3, 1972, стр. 941.
28. С. Оэриу, Там же, 2, Киев, 1972, стр. 59.
29. В. И. Западнюк, Там же, 3, Киев, 1972, стр. 928.
30. М. М. Виленчик, Молекулярные механизмы старения, «Наука», М., 1970.
31. О. Н. Браженская, В. С. Маринов, О. С. Неделина, Э. М. Шекснев, Биофизика, 12, 354 (1967).
32. Я. И. Ажипа, Л. П. Каюшин, В сб. Свободнорадикальные процессы в биологических системах, «Наука», М., 1966.
33. А. И. Арчаков, Усп. соврем. биол., 71, 163 (1971).
34. J. R. Mallard, M. Kent, Nature, 210, 588 (1966).
35. Ю. П. Козлов, Свободные радикалы и их роль в нормальных и патологических процессах, Изд-во МГУ, М., 1973.
36. D. Harman, J. Gerontol., 26, 451 (1971).
37. J. Duchenne, A. Van der Vorst, C. r. Acad. Sci., 268, D, 1969 (1969).
38. А. Н. Саприн, Докт. диссерт., ИХФ АН СССР, М., 1974.
39. Г. А. Узбеков, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 1148.
40. Ж. А. Медведев, Биосинтез белков и проблемы онтогенеза, Медгиз, М., 1963.
41. B. Strehler, G. Hirsch, D. Gussek, R. Johnson, M. Bick, J. theor. Biol., 33, 429 (1971).
42. Г. Д. Бердышев и др., Цитология и генетика, 5, 282 (1971).
43. A. Comfort, Gerontologia, 16, 48 (1970).
44. Б. Стреллер, Время, клетки и старение, «Мир», М., 1964.
45. Н. Gershon, D. Gershon, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 40.
46. R. Holliday, G. M. Tarrant, Nature, 238, 26 (1972).
47. C. M. Lewis, G. M. Tarant, Nature, 239, 316 (1972).
48. Е. Б. Бурлакова, Е. М. Молочкина, Н. П. Пальмина, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 842.
49. Е. Б. Бурлакова, Н. М. Дзюба, Биофизика, 10, 554 (1966).
50. Л. В. Слепухина, Канд. диссерт. ИХФ АН СССР, М., 1969.
51. Е. Б. Бурлакова, Э. Я. Каплан, Л. В. Слепухина, В кн. Влияние повышенного давления кислорода на организм, Изд-во РГУ, Ростов, 1969.
52. А. В. Алексенко, Е. Б. Бурлакова, Н. М. Дзюба, Л. В. Слепухина, Н. М. Эмануэль, Радиобиология, 6, 718 (1966).
53. Л. Н. Шишкина, Н. П. Пальмина, Е. Б. Бурлакова, 4-й Международный Биофизический конгресс, 1, 1972, стр. 279.
54. D. C. Gajdusek, В сб. Advances in gerontological research, 4, N.-Y., 1972, стр. 201.

55. Р. Д. Романова, В. А. Барсель, Сб. материалов 5-й Всес. конф. урологов, ч. 2, М., 1967, стр. 93.
56. В. В. Диссветова, Е. Н. Гениева, Л. С. Евсеенко, Г. И. Раткевич, Е. П. Богословская, Мед. радиол., 1968, № 5, 126.
57. В. В. Диссветова, Е. Н. Гениева, Л. С. Евсеенко, Г. И. Раткевич, Е. П. Богословская, Клинич. Медицина, 1968, № 3, 43.
58. M. A. Cawthorne, E. D. Palmer, J. Green. Biochemical Pharmacol., 22, 783 (1973).
59. А. Я. Боярский и др., Курс демографии, «Статистика», М., 1967.
60. P. J. Lindop, Gerontologia, 5, 193 (1961).
61. D. C. Jones, D. J. Kimeldorf, J. Gerontol., 18, 316 (1963).
62. H. I. Kohn, P. H. Guttman, Rad. Res., 18, 348 (1963).
63. G. S. Smith, P. L. Walford, M. R. Mackey, J. Natl. Cancer Inst., 50, 1195 (1973).
64. J. B. Storer, J. Gerontol., 21, 404 (1966).
65. A. Comfort, I. Youhotsky-Gore, K. Pathmanathan, Nature, 229, 254 (1971).
66. R. E. Anderson, J. V. Scaletti, J. L. Howarth, Exp. Geront., 7, 289 (1972).
67. J. Hollcroft, E. Lorenz, E. Miller, C. C. Congron, R. Schweisthal, D. Urhoff, J. Natl. Cancer Inst., 18, 615 (1957).
68. E. S. Russell, В кн. Biology of the Laboratory Mouse N.—Y., 1966.
69. R. R. Kohn, J. Gerontol., 26, 378 (1971).
70. З. И. Лобанова, З. К. Бландова, В сб. Биология лаборатор. животных, 3, М., 1971, стр. 20.
71. H. A. Gordon, E. Bruckner-Kardoss, B. S. Wostmann, J. Gerontol., 21, 380 (1966).
72. M. Pollard, Gerontologia, 17, 333 (1971).
73. S. H. Weisbroth, Exp. Gerontol., 7, 417 (1972).
74. D. Harman, Gerontologist, 6, 13 (1968).
75. D. Harman, J. Gerontol., 23, 476 (1968).
76. Т. Л. Дубина, Т. В. Коломийчук, Т. П. Плавник, ДАН БССР, 17, 186 (1973).
77. R. Hochschild, Exp. Gerontol., 8, 177 (1973).
78. R. Hochschild, Там же, 8, 185 (1973).
79. G. C. Gotzias, S. T. Miller, A. R. Nicholson, W. H. Maston, L. C. Tang, Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., 71, 2466 (1974).
80. Н. М. Эмануэль, Л. К. Обухова, Л. К. Смирнов, Т. В. Бунто, ДАН (в печати).
81. С. А. Оранская, И. С. Безверхая, В. К. Ященко, В. Д. Походенко, В. И. Западнюк, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 1059.
82. В. Н. Никитин, Тр. НИИ биол. Харьковского университета, 33—34, 243 (1962).
83. Т. В. Коломийчук, Изв. АН БССР, сер. биол. наук, 1972, 77.
84. Т. В. Коломийчук, Автореф. кандид. диссерт., Минск, Ин-т физиологии АН БССР.
85. R. C. Adelman, Exp. Gerontol., 6, 75 (1971).
86. R. C. Adelman, В сб. Advances in gerontological research, 4, N. Y., 1972, с. р. 1.
87. А. Комфорт, Биология старения, «Мир», М., 1967.
88. Ф. А. Линтс, 9-й Международный конгресс геронтологов, 2, Киев, 1972, стр. 36.
89. W. E. Trout, W. D. Kaplan, Exp. Gerontol., 5, 83 (1970).
90. C. A. Woodhams, M. J. Hollingsworth, Exp. Gerontol., 6, 43 (1971).
91. R. Hochschild, Exp. Gerontol., 6, 153 (1971).
92. R. Félix, Rev. soc. mexic. hist. natur., 33, 201 (1972).
93. D. Gershon, Exp. Gerontol., 5, 7 (1970).
94. M. Erlanger, D. Gershon, Exp. Gerontol., 5, 13, (1970).
95. J. Epstein, S. Himmelhoch, D. Gershon, Mech. Age Dev., 1, 245 (1972).
96. R. C. Herold, N. D. Meadow, Ultrastruc. Res., 33, 203 (1970).
97. N. D. Meadow, C. H. Barrows, J. Gerontol., 26, 302 (1971).
98. В. Хеттингер, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 148.
99. J. Epstein, D. Gershon, Mech. Age Dev., 1, 257 (1972).
100. В. Хеттингер, 9-й Международный конгресс геронтологов, 3, Киев, 1972, стр. 1179.

Ин-т химической физики  
АН СССР, Москва