

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

# УСПЕХИ ХИМИИ

ВЫПУСК 3

МАРТ — 1983

ТОМ LII

МОСКВА

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1932 ГОДУ  
ВЫХОДИТ 12 РАЗ В ГОД

УДК 547.024+577.7

## РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ОКИСЛЕНИЯ В МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

*Обухова Л. К., Эмануэль Н. М.*

В обзоре отражено современное состояние знаний о свободнорадикальных реакциях окисления биомакромолекул как одного из факторов старения и рассмотрены возможные причины изменения скорости старения и продления жизни в эксперименте при воздействии химическими геропротекторами.

Библиография — 157 ссылок.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение . . . . .	353
II. Свободные радикалы ( $O_2^-$ , $OH^-$ , $RO_2^-$ ) — эндогенные повреждающие агенты . . . . .	354
III. Вклад процессов перекисного окисления в стохастические механизмы старения . . . . .	360
IV. Особенности действия геропротекторов антиоксидантов . . . . .	365

### I. ВВЕДЕНИЕ

Вне зависимости от сложности и разнообразия теоретических представлений о механизмах старения, большинство геронтологов единодушно в том, что оно может быть следствием накопления повреждений и дефектов на всех уровнях организации живого.

Можно указать, по крайней мере, на два принципиально разных источника случайных нарушений функций и структурных повреждений макромолекул. Во-первых, ошибки могут возникать в процессе нормального функционирования клетки, например, при копировании матрицы ДНК или при синтезе белка, и будут являться следствием несовершенства способа передачи информации от одной макромолекулы к другой. Надежность репликации ДНК и компонентов белоксинтезирующего механизма зависит от их молекулярной структуры и генетически детерминирована.

В обзоре внимание будет в основном сосредоточено на втором источнике возрастного ухудшения функций, связанного со случайными изменениями в различных компонентах клетки, причиной которого являются процессы окислительной деструкции макромолекул. «Свободнорадикальная гипотеза», которая первоначально основывалась на сходстве процессов радиационного и естественного старения, в свое время была сдержанно воспринята некоторыми геронтологами, но тем не менее оказалась плодотворной, ибо она открывала возможность воздействия на скорость старения химическими средствами. Радиопротекторы и антиоксиданты стоят в самом начале списка (в настоящее время довольно обширного) химических геропротекторов.

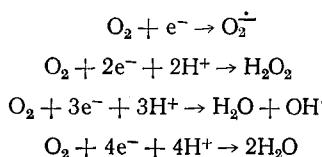
Химические геропротекторы широко используются в качестве инструмента изучения механизмов старения различных объектов экспериментальной геронтологии: клеточных культур, одноклеточных организмов, нематод, насекомых, млекопитающих и т. д. Признание целесообразности применения актиоксидантов нашло отражение, в частности в том, что в последнее десятилетие приобрело широкую популярность изучение так называемого «мембранных компонента» механизма старения.

В геронтологической литературе на основе огромного эмпирического материала сложилось мнение, что существует много независимых путей накопления возрастных изменений даже на молекулярном уровне. Эта точка зрения трудносовместима с попытками создать простую, универсальную теорию старения и предложить какой-либо способ изменить скорость старения и сложившиеся в эволюции видовые границы продолжительности жизни.

В данном обзоре мы попытались, используя собственные и литературные данные о характере стохастических повреждений биоструктур, обосновать взгляд на свободнорадикальные процессы окисления как на особый и всепроникающий фон, на котором реализуется метаболическая деятельность клетки.

## II. СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ ( $O_2^\cdot$ , $OH^\cdot$ , $RO_2^\cdot$ ) — ЭНДОГЕННЫЕ ПОВРЕЖДАЮЩИЕ АГЕНТЫ

В биологических объектах относительно легко регистрируются методами радиоспектроскопии свободнорадикальные состояния органических коферментов, в основном полуокисленные флавины и семихинонная форма убихинонов, локализованные в митохондриях; цитохром P-450, функционирующий в электронно-транспортной цепи микросом, а также гемопротеины, медьсодержащие белки, комплексы марганца, молибдена и т. д. Между величиной метаболической активности ткани и интенсивностью сигналов в спектрах ЭПР существует прямая количественная взаимосвязь [1—3]. Изменению концентрации этих метаболических свободных радикалов в процессе старения удалено внимание в ряде работ [4—6]. Более значительным представляется участие в механизме старения свободных радикалов, источником которых является неферментативное восстановление кислорода, при котором образуются такие парамагнитные частицы, как радикалы гидроксил, супероксид, перекисный радикал ( $OH^\cdot$ ,  $O_2^\cdot$ ,  $RO_2^\cdot$ ). Ниже представлены реакции восстановления  $O_2$ :



Для полного восстановления кислорода до воды требуется участие четырех электронов, в остальных случаях образуются продукты частичного восстановления: перекись водорода и радикалы  $O_2^\cdot$  и  $OH^\cdot$ , высокая реакционная способность которых является основной причиной токсических свойств кислорода.

В работе [7] обращается внимание на то, что пребиотическая атмосфера Земли не содержала свободного кислорода, который появился в ней в качестве продукта жизнедеятельности сине-зеленых водорослей, осуществляющих фотосинтез. Начало, распространение и некоторые первоначальные этапы развития жизни протекали в атмосфере, лишенной кислорода, появление которого не могло не отразиться на эволюции. Кислород, накапливающийся в атмосфере, мировом океане, открывал для живого новые возможности его использования в процессах биосинтеза и энергетических реакциях, был одновременно определенной угрозой самому существованию жизни. Облигатные анаэробы, которые живут в

отсутствии кислорода и не имеют средств защиты от свободнорадикальных токсических продуктов его восстановления, погибают в воздушной атмосфере [8]. Для всех организмов, у которых есть дыхание, кислород, поддерживающий их жизнь, является токсичным; они существуют в его присутствии лишь благодаря определенным защитным системам, возникшим в эволюции и функционирующими столь эффективно, что токсические свойства  $O_2$  привлекли серьезное внимание ученых лишь сравнительно недавно в связи с аналогией кислородного отравления и лучевого поражения [9].

Кратко можно сформулировать самые общие положения, отражающие основные черты «свободнорадикальной опасности» следующим образом:

- 1) реакции неферментативного восстановления  $O_2$  служат фоном, на котором осуществляются все процессы жизнедеятельности;
- 2) свободные радикалы, содержащие кислород, являются причиной окислительной деструкции биологических макромолекул;
- 3) благодаря большой реакционной способности (константы скорости взаимодействия радикала  $OH^{\cdot}$  близки к диффузионным), они не требуют для реакции специфического субстрата, место их атаки случайно, они могут повредить любое звено молекулярной структуры клетки;
- 4) переходные металлы (Fe, Cu) играют роль катализаторов перекисного окисления.

Сейчас можно утверждать, что «свободнорадикальная» гипотеза старения, предложенная в 50-х гг. [10], относится к числу немногих представлений в геронтологии, которые выдержали экспериментальную проверку. Действительно, следуя очевидной логике, можно ожидать ускорения старения при увеличении концентрации свободных радикалов, что легко достигается хроническим облучением или повышением давления  $O_2$ . Воздействие ионизирующей радиацией служит одним из самых эффективных способов экспериментального ускорения старения. При облучении дозами, меньшими летальных, у животных не возникает явных признаков лучевого поражения (за исключением раннего поседения), тем не менее, длительность их жизни укорачивается пропорционально величине дозы. В монографии [11] приводится пример ускорения старения самцов дрозофилы, облученных в однодневном возрасте дозами 80 и 40 крад гамма-лучей. Двукратное увеличение дозы вдвое сокращает среднюю продолжительность жизни мух. Аналогичные данные известны для лабораторных мышей и крыс [12]. Между естественным старением и индуцированным радиацией сокращении жизни нет полного тождества [13], однако анализ причин смерти облученных животных показал, что они погибают от тех же самых болезней, что и необлученные животные, хотя относительная частота разных заболеваний может быть неодинаковой. Таким образом, можно полагать, что по крайней мере некоторые из повреждений, вызываемых радиацией, сходны с возрастными изменениями.

Увеличение концентрации  $O_2$  в атмосфере приводит также к заметному сокращению жизни дрозофилы, которое сопровождается интенсивным накоплением в тканях мух «возрастного пигмента» — липофусцина, что свидетельствует об активации свободнорадикального окисления [14]. В этом случае средняя продолжительность жизни мух снижалась с 78,1 до 34,6 дня; их жизнеспособность падала значительно быстрее, чем в контроле. Исследование тканей в световом и электронном микроскопе показало наличие больших скоплений цероид-липофусцина во внутренних органах, пластинчатых плотных тел — в нервных клетках, разрушение цитоплазматических мембран.

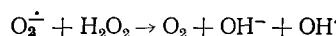
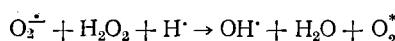
Процесс старения культивируемых клеток также оказался чувствительным к изменению концентрации кислорода. При культивировании диплоидных фибробластов человека под высоким давлением  $O_2$  (до 50 атм) наблюдали замедление скорости деления и способности к образованию колоний, особенно на поздних пассажах. Если такое же давление создавалось избытком азота, то это не отражалось на жизнеспособ-

ности клеток, т. е. наблюдаемый эффект уменьшения пролиферативного потенциала является следствием токсического действия  $O_2$ , а не повышения давления [15].

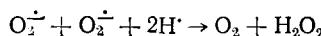
В других работах был применен иной способ ускорения свободнорадикального окисления посредством обогащения рациона ненасыщенными легкоокисляемыми жирами. Увеличение количества и степени ненасыщенности жиров приводило к сокращению средней продолжительности жизни мышей и к увеличению частоты злокачественных опухолей [16]. При содержании двух линий дрозофил на среде, в которой глюкозу заменили на пальмитиновую кислоту, растительное масло, маргарин и т. д., сохраняя калорийность корма на постоянном уровне, наблюдали уменьшение средней продолжительности жизни, пропорциональное добавке жира. Если мух переводили с диеты, обогащенной жиром, на стандартную, то скорость смертности уменьшалась, однако не все изменения, вызванные введением в рацион избытка жира, были обратимыми [17].

С другой стороны, уменьшение интенсивности свободнорадикальных реакций в организме приводит к замедлению старения и к увеличению продолжительности жизни. Результаты этих работ будут представлены в заключительном разделе данного обзора при обсуждении механизма действия геропротекторов.

При более внимательном рассмотрении реакций кислородсодержащих свободных радикалов следует учитывать специфику их взаимодействия с компонентами клетки. Взаимодействие супероксидного радикала  $O_2^\cdot$  с перекисью водорода приводит к образованию радикалов  $OH^\cdot$  и синглетного кислорода, молекула которого несет избыточную энергию [18].



Спонтанная дисмутация (диспропорционирование)  $O_2^\cdot$  вновь приводит к возникновению перекиси водорода [19]:



константа скорости этой реакции при  $pH=7,4$  составляет  $10^5$   $s^{-1}$ .

Известно большое число спонтанных и энзиматических окислительных реакций, генерирующих значительные количества  $O_2^\cdot$ : автоокисление восстановленных флавинов, гидрохинонов, катехоламинов, ферриодексинов и гемопротеинов, ферментативные процессы с участием ксантинооксидазы и многих флавиновых гидрогеназ и т. д. [20, 21]. Супероксидный радикал реагирует и как восстановитель, и как окислитель. Он участвует в реакциях восстановления цитохрома *c*, нитросинего тетразоля, тетранитрометана и т. д., а также окисляет сульфидрильные соединения, сульфиты, аскорбиновую кислоту и др. Легко окисляется радикалом  $O_2^\cdot$  восстановленная форма НАДН, связанного с лактатдегидрогеназой, тогда как свободный НАДН окисляется медленнее [22].

Ферментативную дисмутацию  $O_2^\cdot$  до перекиси водорода и кислорода осуществляют фермент супероксиддисмутаза (СОД); в цитоплазме клеток эукариот присутствует СОД, содержащая медь и цинк, при участии которой реакция диспропорционирования радикалов  $O_2^\cdot$  протекает со скоростью, близкой к теоретическому диффузионному пределу, при этом скорость спонтанной дисмутации превышается ~ в 20 000 раз. СОД защищает клетку от токсического действия радикала  $O_2^\cdot$  и радикала  $OH^\cdot$ , еще более реакционноспособного, который возникает при взаимодействии перекиси водорода с  $O_2^\cdot$  или солями двухвалентного железа [23, 24].

В работе [25] наблюдали окислительный распад лизосомной мембраны и установили, что причиной разрушения являются свободнорадикальные реакции, инициируемые супероксидным радикалом, который образуется при окислении восстановленного флавопротеина микросом печени. Авторы показали, что сам по себе радикал  $O_2^-$  не реагирует с мембранный, непосредственным участником цепных реакций окисления липидов мембранны является  $OH^-$ , образующийся в присутствии АДФ и  $Fe^{3+}$ . Присутствие СОД предотвращает разрушение лизосом.

В качестве восстановителя комплекса АДФ —  $Fe^{3+}$ , более эффективного, чем супероксид, может быть использована аскорбиновая кислота, чем, по-видимому, объясняется ее роль промотора перекисного окисления в тех случаях, когда витамин С используется в дозировках, заведомо во много раз превышающих физиологические [26].

Используя в качестве источника супероксидного радикала реакцию окисления ксантина ксантиноксидазой, измерили скорость окисления витамина Е; константа взаимодействия  $O_2^-$  с  $\alpha$ -токоферолом оказалось достаточно большой ( $1,7 \times 10^{-4}$  моль $^{-1}$  с $^{-1}$ ) это позволило авторам предполагать, что встроенный в мембрану  $\alpha$ -токоферол может улавливать радикал  $O_2^-$  и предотвращать инициирование окисления липидов [27]. Коэффициент проницаемости бислойной липидной мембранны для анион-радикалов кислорода близок к величинам проницаемости для других ионов [28]. При облучении, стимуляции перекисного окисления и при воспалительных процессах наблюдали деполимеризацию синовиальной жидкости и очищенных препаратов гиалуроновой кислоты, которая протекает при участии радикалов  $O_2^-$  и  $OH^- \cdot CO_D$  и каталаза проявляют защитный эффект [29, 30].

Многое в отношении роли супероксиддисмутазы в процессе старения остается еще неясным. Некоторую информацию могут дать сведения о возрастных изменениях активности и свойств СОД. Значительную работу в этой области проделали авторы статьи [31], которым удалось обнаружить различия в свойствах очищенного фермента, выделенного из печени молодых и старых крыс. «Старый» фермент был в 1,5 раза менее активным, чем «молодой», хотя кинетические свойства того и другого были одинаковыми. При изучении термической инактивации проявилась неоднородность «старого» фермента, который имел в своем составе термолабильную фракцию, отсутствующую в образце «молодого» фермента. Таким образом, СОД пополнила список «неактивных» ферментов (среди которых: альдолаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа и др. [32]).

Данные по изменению при старении активности СОД в тканях лабораторных животных неоднозначны. Иногда возрастные различия вполне отчетливы, но известны случаи, когда они отсутствуют. Активность цитоплазматической СОД в сердце и печени 34-месячных мышей была снижена на 50% по сравнению с 3-месячными. Такая же картина наблюдалась у 40-дневных и 4-дневных нематод [33]; в ткани мозга мышей активность этого фермента уменьшается на 32—36% (в расчете на содержание белка или ДНК) в диапазоне 50—900 дней [34]. В работе [35] не нашли изменений в активности СОД у 3-месячных и двухлетних крыс, но отметили значительное увеличение активности каталазы и глутатион-пероксидазы.

Показано одновременное уменьшение эффективности генерации  $O_2^-$  и активности СОД в печени старых крыс [36], это наблюдение позволило авторам высказать предположение о сохранении в клетках баланса между процессами генерации свободных радикалов и защитными реакциями, направленными на ингибирование стохастического окисления.

По вопросу о том, следует ли считать супероксиддисмутазу адаптивным ферментом, высказывались противоположные мнения. В условиях гипероксии наблюдали увеличение активности этого фермента в легочной ткани человека [37], а также под влиянием красителя метилвиолюгена, который обладает свойством повышать внутриклеточную концентрацию радикала  $O_2^-$  [38].

После продолжительного облучения умеренными дозами не нашли увеличения активности СОД в тканях дрозофилы и крыс [39]. В более жестких условиях при воспроизведении экспериментального синдрома пероксидации содержанием кроликов на диете, лишенной экзогенных антиоксидантов, наблюдали увеличение активности СОД [40, 41]. В последней работе установлено монотонное уменьшение с возрастом ее активности; считая за 100% активность СОД в печени неполовозрелых крыс, получили следующие данные: 8-месячные — 50%, 23-месячные — 18% и 30-месячные — 15%.

В ходе доимагинального развития дрозофилы активность СОД увеличивается в 3,5 раза, но у имаго (считая на всю массу тела) практически не изменяется с возрастом [42]. Активность митохондриального фермента достигает максимума у 8-дневных дрозофил, затем уменьшается на 21% за последующие 50 дней. Нельзя исключить возможность обнаружения возрастных изменений активности СОД в различных органах и тканях взрослого насекомого. У мутантной линии дрозофилы, обладающей значительно сниженной продолжительностью жизни, активность цитоплазматической СОД была всегда меньше, чем у мух дикого типа [43].

Интересные данные опубликованы в работе [44], в которой изучали жизненный цикл мутанта *Neurospora crassa* с коротким временем существования. В стадии старения был обнаружен сигнал ЭПР супероксида-ниона с  $g=2,02$ . В присутствии антиоксиданта нор-дигидрогваяретовой кислоты интенсивность этого сигнала уменьшалась, но увеличивалась одновременно интенсивность сигнала высокоспинового Fe с  $g=5,45$ . По мнению автора, антиоксидант ускоряет превращение  $O_2^-$  в перекись водорода, благодаря чему индуцируется синтез каталазы, которой принадлежит сигнал с  $g=5,45$ .

В культивируемых линиях диплоидных клеток человека, которые обладают лишь ограниченной продолжительностью жизни и рассматриваются обычно как модель клеточного старения [45], наблюдаемые изменения активности СОД пока не допускают однозначной интерпретации. В клетках, источником которых служила ткань легкого эмбриона, на протяжении последних 30 пассажей жизни культуры активность СОД не изменялась [46]. По данным работы [47], наиболее значительный рост активности супероксиддисмутазы происходит на ранних этапах культивирования, с 10-го по 20-й пассаж. В данной работе специфическая активность СОД измерялась в клетках диплоидных культур, полученных от доноров разного возраста; существенное повышение активности с увеличением числа удвоений популяции отмечено для линий, выведенных из клеток эмбрионов или новорожденных, но наибольшая (и неизменная) величина активности СОД была характерна для клеток культур, происходящих от тканей взрослых людей. Параллельно с увеличением активности СОД в клетках кожи новорожденного снижалась скорость метаболизма белка и возрастали доля термолабильных ферментов и скорость reparативного синтеза ДНК на фоне накопления продуктов окисления. Авторы склонны предполагать, что в старых клетках активность СОД увеличивается в ответ на активацию процессов свободнорадикального окисления.

Таким образом, в настоящее время имеются многочисленные факты, свидетельствующие о том, что ферменты супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза, удаляющие  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  и органические перекиси, наряду с природными антиоксидантами играют роль важнейших защитных систем клетки. В работе [48] были систематизированы факторы, отрицательно или положительно влияющие на продолжительность жизни млекопитающих. Среди отрицательных факторов (всего их 10) второе место отводится накоплению возрастного пигmenta липофусцина, который, по мнению большинства геронтологов, образуется при свободнорадикальном окислении липидных и белковых компонент биомембран. В перечне положительных факторов (их 18) на первом месте стоят процессы reparаций ДНК, а следующими по важности представ-

лены антирадикальные (ферментные и антиоксидантные) защитные системы.

Авторы работы [49] исследовали возможную роль СОД в детерминировании долголетия у млекопитающих. Специфическая активность изменилась в цитоплазме печени, мозга и сердца у двух видов грызунов, 11 видов приматов и человека; диапазон изменений максимальной продолжительности жизни составлял от 3,5 до 95 лет. Активность СОД в тканях животного одного вида была одинаковой, но у разных видов ее уровень различался более чем в 2 раза и был наибольшим у человека. Возрастные изменения активности выражены у всех видов нечетко. Отношение активности СОД к специфической метаболической скорости в данной ткани или в целостном организме (метаболическая скорость измеряется по поглощению  $O_2$ ) увеличивается с увеличением максимальной продолжительности жизни у всех видов. Эта корреляция позволяет предполагать, что у долгоживущих видов имеется более совершенная защита от побочных продуктов метаболизма  $O_2$ . Здесь уместно вспомнить результаты поисков связи между продолжительностью жизни и анатомо-физиологическими параметрами организма [50]. Методом множественной регрессии для 85 видов млекопитающих показано, что продолжительность жизни определяется всего двумя независимыми параметрами: «индексом цефализации», т. е. отношением веса головного мозга к весу тела, и интенсивностью метаболизма (рассчитывается по поглощению  $O_2$  при 37°). Полученное уравнение показывает, что продолжительность жизни тем больше, чем больше индекс цефализации и чем меньше метаболическая скорость (и длиннее связанный с нею период развития). По мнению Катлера [48], увеличение продолжительности жизни в эволюции млекопитающих происходило благодаря отбору и совершенствованию защитных систем и «процессов жизнеподдержания» (противоположных старению), что привело, в частности, к удлинению времени развития у долгоживущих видов.

Не представляется возможным рассмотреть в рамках данного обзора другую сторону биологической роли  $H_2O_2$ ,  $O_2^\cdot$ , большая реакционная способность которых используется клетками в целях защиты от неблагоприятных факторов. Известно, например, что фагоцитирующие лейкоциты содержат в 2—4 раза большие количества  $H_2O_2$  и активнее продуцируют  $O_2^\cdot$ , чем нефагоцитирующие полиморфно-ядерные клетки [51]. Ограничимся указанием литературы по этому вопросу [20—22, 24, 52].

При ферментативной дисмутации радикалов  $O_2^\cdot$  образуются вода и кислород в триплетном состоянии. Реакция спонтанного диспропорционирования приводит к возникновению молекулы перекиси водорода, которая в свою очередь реагируя с другим свободным радикалом  $O_2^\cdot$  дает синглетный кислород и радикал  $OH^\cdot$ . Молекула синглетного кислорода, реагируя с биосубстратом за счет избыточной энергии, инициирует новые центры свободнорадикального окисления. Повреждение молекул ДНК синглетным  $O_2$  исследовалось в работе [53]; роли синглетного кислорода в патологии клеточных мембран посвящен обзор [52]. Известные продуценты синглетного кислорода  $NaOCl$  и гербицид З-АТ, инактивирующий каталазу, благодаря чему в тканях накапливается избыток  $H_2O_2$ , добавляли в корм для дрозофилы. Средняя продолжительность жизни снижалась при этом на 25—29%. Одновременное добавление больших доз тушителей  $O_2$   $\beta$ -каротина и 1,4-диазобицикло-(2,2,2)-октана оказывало некоторое защитное действие, но не могло полностью предотвратить отрицательного воздействия источников  $O_2^\cdot$ . Тушки не обладали свойствами геропротекторов, т. е. не замедлили старения интактных мух. На этом основании авторы работы [54] приходят к выводу, что роль синглетного кислорода в процессе естественного старения незначительна и становится заметной лишь в тех случаях, когда искусственно создаются большие его концентрации.

### III. ВКЛАД ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ В СТОХАСТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ

Имеется обширная литература по взаимосвязи процессов старения и перекисного окисления липидов, которым принадлежит также и определенное место в нормальной жизнедеятельности клетки [6, 55—59]. В отличие от митохондриального окисления, служащего преимущественно источником энергии, роль перекисного окисления связана прежде всего с образованием активных метаболических продуктов, участвующих в превращениях липидов — основного субстрата перекисного окисления. Скорость перекисного окисления регулируется многими факторами, которые могут как инициировать процесс (прооксиданты), так и ингибировать его. Структуру защитных механизмов, предохраняющих клетку от избыточного накопления токсичных продуктов окисления, представляют обычно состоящей из двух ступеней [60]. Первую составляют антиоксиданты, непосредственно реагирующие со свободными радикалами, вторую — ферменты и неферментные компоненты, восстанавливающие гидроперекиси и частично рассмотренные нами в предыдущем разделе. В работе [61] вводится дополнительно антикислородная ступень защиты, функцию которой выполняют в основном соединения типа каротиноидов, поглощающие избыток свободного кислорода и поддерживающие давление  $O_2$  в клетке в физиологических пределах.

Концентрация эндогенных перекисей липидов в тканях определяется соотношением скоростей их образования и распада. В клеточной мембране постоянно содержится какое-то количество перекисей липидов, от концентрации которых зависит ее проницаемость. В печени крысы, например, нормальная концентрация перекисей липидов не превышает  $10^{-7}$  моль. Биосинтез таких гормонов, как простагландины, проходит через этап образования перекисей ненасыщенных кислот [62]; при синтезе холестерина и стероидных гормонов в качестве промежуточного продукта образуется скваленоксид [63].

Большой интерес представляют работы, связывающие метаболизм липидов со скоростью клеточного деления. На основе анализа большого фактического материала авторы книги [64] приходят к выводу, что уменьшение пролиферативной активности клеток сопровождается уменьшением количества природных антиоксидантов и увеличением интенсивности свободнорадикальных реакций. Роль ингибиторов клеточного деления обычно приписывается перекисям липидов. Эти наблюдения послужили основанием для гипотезы о свободнорадикальном механизме регуляции деления клеток, очень лабильном и чувствительном к разнообразным внешним воздействиям, при которых изменяется концентрация природных антиоксидантов, состав липидов, скорость инициирования свободнорадикальных реакций и т. д. Присутствие антиоксидантов в липидной фазе мембранны рассматривается в настоящее время как непременное условие поддержания ее структуры, тогда как процессы перекисного окисления липидов приводят к ее разрушению. Не исключается, что витамин Е выполняет и структурную роль [65—67].

Авторы работы [68] отводят важное место в биохимии перекисей их взаимодействию с белками, считая, что наиболее уязвимыми являются  $NH_2$ - и сульфидрильные группы, которые окисляются до дисульфидных; не только перекиси, но и продукты их дальнейшего превращения, например эпоксиды, соединяясь с белками, образуют нерастворимые комплексы. В цитируемой работе указывается 15 ферментов, для которых перекиси липидов являются ингибиторами активности, среди них ферменты гликозилазы, трикарбонового цикла и дыхательной цепи. Рибонуклеаза А, которая не содержит SH-групп, тем не менее инактивируется продуктами окисления ненасыщенных жирных кислот, в инактивированном ферменте присутствуют высокомолекулярные полимеры, спектр флуоресценции которых идентичен спектру флуоресценции липофусцина, накапливающегося в старческой сердечной мышце [69]. Взаимодействие с перекисями липидов вызывает деструкцию каталазы,  $\gamma$ -глобулина, гемоглобина,

яичного и сывороточного альбуминов, метионина, гистидина и других аминокислот [70].

Наиболее уязвимыми для окислительного разрушения структурами являются микросомные и митохондриальные мембранны, в которых локализованы такие ферменты, какmonoаминооксидаза или микросомальная цитохромоксидаза, нормальной функцией которых является катализ окисления кислородом. Дестабилизация мембран в результате локально-го взаимодействия липидов с метаболическими или экзогенными свободными радикалами превращает их в легко доступный для окисления субстрат. При обработке суспензии митохондрий печени крысы раствором солей двухвалентного железа наблюдали активацию свободнорадикального окисления, благодаря чему утрачивалось около 65% митохондриального белка и 40% липидов. Индукция перекисного окисления приводит к полной инактивации изоцитратдегидрогеназы, 3-оксибутиратдегидрогеназа инактивируется на 80%, малат- и сукцинатдегидрогеназы — на 36 и 23%. Нарушается окислительное фосфорилирование [71]. Вторичным следствием частичного окисления ненасыщенных жирных кислот мембранны будет их замена на насыщенные липиды, которая приведет к изменению проницаемости и функциональных свойств; уменьшается сродство мембран микросом к холестерину и возникает его дефицит [72, 73].

Нарушение биологического механизма ингибирования свободнорадикального окисления может быть пусковым фактором для развития таких патологий, как лучевая болезнь, атеросклероз, опухоли [2, 4, 74]. Старение, как и экспериментальный синдром липидной пероксидации, характеризуется, по определению автора работы [75], «тетрадой» — поражением мембран, инактивацией ферментов, нарушением клеточного деления и накоплением балластных полимеров. В обзоре [72] перечисляются экспериментально зарегистрированные отклонения на физиологическом, клеточном и субклеточном уровнях, источником которых являются повреждения мембран в процессе старения. Наиболее существенные из них таковы: нарушение проницаемости мембраны клетки, появление гетерогенных по структуре и свойствам микросом и митохондрий; снижение количества холестерина в микросомах печени старых животных; снижение эффективности по отношению к таким эндокринным эффекторам, как инсулин и катехоламины, физиологическая активность которых зависит от стериоспецифического взаимодействия между гормоном и рецептором; накопление продуктов переокисления в клетках и крови.

Поиски критерия старения диплоидных фибробластов человека, се-рийно культивируемых вне организма, привели к заключению [76], что «печать возраста» всего заметнее отражена в свойствах клеточной мембраны. Фракционированием обычной клеточной популяции, прожившей *in vitro* 20 пассажей, авторы получили несколько субкультур, состоящих из одинаковых по размеру клеток, и проследили их переход в фазу старения. Оказалось, что такие часто употребляемые показатели старения, как размер клеток, объем ядра, интенсивность включения тимицина, содержание ДНК и т. д., плохо коррелируют с возрастом культуры. По мере старения клетки изменяются адсорбционные свойства ее поверхности; конканавалин А, связанный с эритроцитами, слабо адсорбируется клетками молодых культур, интенсивность адсорбции линейно увеличивается с числом пассажей и не зависит от фазы клеточного цикла и метаболического возраста.

Итак, основной источник структурных и функциональных неполадок, возникающих при старении, возможно, кроется в нарушении пространственных и кооперативных взаимодействий в цитоплазме, матриксе, мембранах органелл и на поверхности клеток. От этих свойств, которые определяют специфическую организацию, зависит активность мембранных ферментов, рецепция и проницаемость. Если эти свойства претерпевают необратимые изменения или утрачиваются, то даже при корректной программе синтеза функционирование клетки будет затруднено из-за непол-

иоценностей эндокринных рецепторов или модуляторов, обеспечивающих надежность транспорта метаболитов.

Сохранение относительного постоянства внутренней среды организма является одним из непременных условий существования. Постоянство физиологического уровня свободнорадикальных реакций окисления обеспечивается в основном антиоксидантами, среди которых важнейшая роль принадлежит витамину Е, распределение и метаболизм которого изучены достаточно полно главным образом в связи с Е-авитаминозом [64, 65, 68, 75, 77—82]. Потребность в витамине Е и других антиоксидантах изменяется в течение жизни. У неполовозрелых кроликов и крыс содержание витамина Е в крови, печени и скелетной мышце прогрессивно увеличивалось в периоде роста, у взрослых животных наблюдалась относительная стабилизация, у старых — уменьшение. Последнее, возможно, связано и с интенсивным разрушением антиоксидантов в реакциях окисления и с недостаточным их усвоением. По сравнению с 30-летними людьми у 60—70-летних концентрация витамина Е в плазме крови снижается на 60% [83]. По данным работы [84], при старении мышей устойчивых линий и новозеландских черных мышей с наследственным дефектом иммунной системы наблюдается перераспределение аскорбиновой кислоты в ткани печени и селезенки. У иммунодефицитных мышей уровень витамина С в ткани селезенки уменьшался в период, предшествующий развитию аутоиммунной болезни. Закономерное снижение величины антиокислительной активности липидов с возрастом зарегистрировано в работах [85, 86]; существенно, что скорость уменьшения этой величины была больше для короткоживущих мышей. Изменение скорости образования перекисей липидов в микросомах крыс при старении описано в работе [87]; в присутствии аскорбата скорость окисления неравномерно увеличивалась с возрастом: в возрасте 600 дней она была меньше, чем в возрасте 400 дней, но превышала таковую у молодых животных. Автор объясняет это наблюдение уменьшением у старых крыс эффективности монооксигеназной системы микросом.

Сведения о возрастных изменениях интенсивности перекисного окисления в субклеточных фракциях гомогенатов тканей противоречивы; недавно сообщалось [88, 89] об уменьшении накопления малонового дильдегида в условиях индуцированного окисления микросомной, митохондриальной и постядерной фракции печени старых крыс; окисление замедлялось при увеличении концентрации белка.

Многие факты указывают на существование функциональной взаимосвязи разных звеньев антиоксидантной системы защиты в клетках. Активность глутатионпероксидазы эритроцитов, восстанавливающей перекиси липидов, зависит от содержания в крови витамина Е [90]. Концентрация восстановленного глутатиона в эритроцитах мышей снижается как при старении самих красных клеток, так и при старении организма. У старых мышей (31 мес.) его количество в печени, почках и сердечной мышце на 30, 34 и 24% ниже, чем у 17—23-месячных животных. Инволюция тимуса у мышей сопровождается обеднением его ткани коферментом Q (убихинон), который к двухлетнему возрасту утрачивается на 80%, что в свою очередь приводит к почти полной инактивации в этом органе сукцинатдегидрогеназы [91, 92].

В работе [75] сделан вывод о системности биологического ингибирования свободнорадикальных реакций в организме, которое реализуется через ряд взаимодействующих окислительно-восстановительных реакций токоферолов, глутатиона и аскорбата.

К числу природных антиоксидантов принадлежат SH-содержащие белки, концентрация которых в плазме крови людей уменьшается с возрастом почти на 30% [93]. В настоящее время не подлежит сомнению, что статус витамина Е в организме связан с биохимической функцией соединений селена; при недостатке селена в пище ускоряются обмен токоферолов и катаболизм белков микросом печени [94].

При недостатке витамина Е или длительной гипероксии возникают ясно выраженные изменения в морфологии клеток, особенно неделяющих-

ся. В цитоплазме нервных и мышечных клеток образуется липофусцин, который скапливается в виде небольших желтых или коричневых гранул, обладающих характерной слабой флуоресценцией. Липофусцин или «старческий пигмент» рассматривается многими геронтологами как лучший индикатор возраста; общеизвестно установленное Стрелером [95] линейное соотношение между возрастом и содержанием липофусцина в миокарде человека. О происхождении липофусциновых гранул, их биохимических свойствах и биологической роли имеется обширная литература [96—98], что делает ненужным подробное изложение вопроса. Многочисленные сведения о структурных и биохимических свойствах липофусцина показывают, что возможным источником его образования являются процессы свободнорадикального окисления липидов и белков мембран. Известно, что с возрастом и при неблагоприятных условиях (стресс, отравление) происходит обеднение мембран природными антиоксидантами. При окислении в модельных условиях мембран митохондрий, микросом и лизосом фосфатидилэтаноламин «сшивается» малоновым диальдегидом, образуя флуоресцирующий продукт; у животных, получавших пищу, лишенную витамина Е, липофусцин накапливается в различных органах быстрее в 1,5—6 раз [97]. Не раз наблюдали увеличение числа липофусциновых гранул к концу жизненного цикла культивируемых нормальных клеток. Диплоидные клетки человека на 40—42 пассажах находятся в III фазе роста и содержат около 80% неделяющихся клеток; в таких клетках происходит накопление вторичных лизосом типа остаточных телец; методом анализа дисперсии рентгеновских лучей было найдено, что остаточные тельца содержат большие количества Fe [99].

Как отражается накопление липофусциновых гранул на функции клетки, вопрос спорный. Большие скопления липофусцина сами по себе могут затруднить функционирование, особенно нейронов, в которых с возрастом, а также при неполноценном рационе или нерациональном применении лекарств повышается содержание эндогенных лизофосфоглицеридов, обладающих детергентным действием на мембранны. Исследуя методом электронной микроскопии ткани различных участков головного мозга больных нейрональным цероид-липофусцинозом, погибших в возрасте 7,5—22 лет, установили характерное накопление в молодом возрасте больших масс липофусцина в нервных клетках. Признаки преждевременного старения (утрата зрения, обширная пигментация тканей, атрофия мышц) также сопутствуют этому наследственному заболеванию [100]. В работе [101] измеряли средний процент объема большого нейрона человека, занятый ядром, цитоплазмой и липофусцином в разном возрасте. В 40 лет эти величины соотносятся как 1 : 2 : 2, т. е. цитоплазма уже наполовину поглощена липофусцином, в 60- и 80-летнем возрасте объем ядра не меняется, но объем функционирующей цитоплазмы сокращается в 1,3 и в 2 раза; у людей, достигших 100-летнего возраста, на 60% сокращается объем ядра (по сравнению с 40-летними), а липофусцин занимает больше 80% общего цитоплазматического объема. В 17 разделах головного мозга человека электрономикроскопически показано быстрое накопление с возрастом липофусцина, амилоида и увеличение числа сенильных бляшек [102]. Авторы этой работы считают, что природа возрастных изменений и их последствия для организма зависят от типа тканей и приписывают роль основного регулятора скорости старения — «биологических часов» — клеткам центральной нервной системы. На неравномерный характер накопления липофусцина в разных отделах головного мозга крыс и мышей указывают данные работы [103]. В гиппокампе старых крыс и мышей процесс накопления пигmenta начинается гораздо раньше, с 9—11 месяцев, и протекает с большей скоростью, чем в клетках Пуркинье и коре головного мозга. В слое гранулярных клеток мозжечка у крыс и мышей всех возрастных групп пигментом занято менее 0,6% поверхности среза.

Старение насекомых также сопровождается накоплением возрастного пигmenta. Низкое содержание токоферолов и отсутствие глутатион-

пероксидазы является причиной относительно высокой скорости процессов перекисного окисления в клетках медоносной пчелы. Зарегистрировано выделение пентана, который образуется в результате расщепления гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот, и зависимое от возраста увеличение концентрации липофусцина в клетках торакального отдела рабочих пчел [104]. Измеряли содержание флуоресцирующих веществ в тканях домашних мух в возрасте 1, 4, 11 и 15 дней и обнаружили повышение их концентрации с возрастом, причем наибольшее количество экстрагировалось из нейронов. Анализ спектров поглощения и испускания их комплексов с европием позволил идентифицировать флуоресцирующие пигменты как конъюгированные основания Шиффа; посредством флуоресцентной микроскопии была выявлена их локализация в липофусциновых гранулах [105]. Новые данные, подтверждающие роль липофусцина в качестве клеточного маркера физиологического возраста, следуют из работ, в которых экспериментально варьировали скорость старения [106, 107]. Мухи высоконебредного штамма были разделены на две группы, в одной из которых ограничивали летательную активность, что вызывало увеличение более чем в 2 раза средней и максимальной продолжительности жизни. Методами электронной микроскопии и спектрофлуориметрии определяли относительное количество липофусцина в гигантских нейронах мозга мух разного возраста. Скорость накопления пигмента у короткоживущих мух с высокой летательной активностью была в 4 раза больше, его максимальное содержание (одинаковое для обеих групп) достигалось раньше.

Нельзя, однако, пройти мимо тех работ, авторы которых придерживаются прямо противоположной точки зрения, рассматривая процесс накопления липофусцина как адаптивный и считая возрастной пигмент нормальным структурным компонентом клетки. Известно мнение [108], что включения липофусцина идентичны цитосомам нейронов моллюсков, содержащим каротиноиды, которые функционируют в качестве внутриклеточного депо кислорода, у некоторых низших животных, постоянно обитающих в условиях гипоксии. Этот взгляд разделяется авторами книги [109], которые считают накопление липофусцина приспособительным процессом, отчасти уравновешивающим гипоксическое состояние клетки при старении. Известно, что в пожилом и старческом возрасте снижается напряжение кислорода в тканях, с чем связано, по-видимому, возрастное уменьшение уровня энергообмена. В то же время активация свободнорадикальных реакций окисления угнетает тканевое дыхание из-за повреждения митохондрий и ферментов биологического окисления. Уменьшение потребления кислорода на поздних этапах онтогенеза отнюдь не указывает на уменьшение потребности в  $O_2$ , а может представлять собой результат нарушения его использования. По мнению авторов работы [68], между ферментативным окислением и перекисным окислением, развивающимся по свободнорадикальному механизму, существует антагонистическое взаимодействие. При оптимальном режиме функционирования ферментных окислительных систем клетки уменьшается возможность образования перекисей липидов, и наоборот, при старении, вследствие уменьшения использования  $O_2$  в энергетических процессах, наблюдается усиление прямого окисления липидов.

На возможную защитную роль витамина Е при острой экспериментальной гипоксии указывает исследование [110], в котором наблюдали повышение концентрации токоферолов в ткани надпочечников, что приводит к выбросу резервов адреналина, уменьшению интенсивности стрессорной реакции и снижению потребления  $O_2$  тканями.

Из патологических состояний, характерных для пожилого возраста, несомненно, самым распространенным является атеросклероз, развитие которого, возможно, связано с изменением антиоксидантного статуса организма. Представляются интересными результаты работ, в которых используются экспериментальные модели атеросклероза. При содержании животных длительное время на диете, обогащенной жиром и лишенной антиоксидантов, наблюдается снижение показателей функциональной

активности антиоксидантной системы и развитие биохимических и морфологических признаков атеросклероза. По мере нарастания тяжести заболевания увеличивается в крови концентрация общих липидов, перекисей липидов, малонового диальдегида, деградирует стенка аорты. Использование антиоксидантов позволяет регулировать обеспеченность ими организма и замедлить развитие атеросклероза. Испытание ионола, гексагидроубихинола-4, кверцетина, селенита натрия, витаминов, Р, Е и С показало, что действие этих соединений связано с торможением перекисного окисления и защитой от окислительной деструкции эластических волокон артерий [111—113].

#### IV. ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ-АНТИОКСИДАНТОВ

Механизм действия химических геропротекторов разных классов посвящено несколько обстоятельных обзоров [114—117], а также одна из глав монографии Комфорта [118], что позволяет нам избежать детального изложения, сделав исключение для антиоксидантов, наиболее перспективных, по общему мнению, геропротекторов. Опубликованную в 1975 г. [119] сводку известных к тому времени геропротекторов следует дополнить несколькими новыми соединениями. Ингибиторы радикала OH<sup>-</sup> молочная и глюконовая кислоты, а также соли Na и Mg тиазолидинкарбоновой кислоты (антиоксиданты) замедляют старение у дрозофилы и лабораторных мышей [120, 121]. Активной оказалась янтарная кислота, воздействующая на энергетический баланс клетки [122]. Дифенин (5,5-дифенилгидантоиннатрий), фенформин (1-фенилэтилбигуанид хлоргидрат) и полипептидный экстракт эпифиза обладают свойством снижать порог чувствительности гипоталамо-гипофизарного комплекса к регулирующим воздействиям, уменьшать частоту спонтанных опухолей и увеличивать продолжительность жизни подопытных животных [123, 124]. Ингибиторы биосинтеза белка — оливомицин, актиномицин D, морфоциклины — составляют новую группу химических геропротекторов со специфическим механизмом действия [125, 126].

В большинстве случаев принадлежность к геропротекторам определяется не химической структурой и не каким-либо одним свойством, но совокупностью свойств, характеризующих биологическую активность. В этом отношении наиболее подробно изучены антиоксиданты. В свободнорадикальной гипотезе заключено предположение, что антиоксиданты замедляют процесс старения благодаря тому, что препятствуют накоплению повреждений на молекулярном уровне [127]. Подразумевается, что процесс накопления повреждений охватывает все без исключения клеточные структуры от генетического материала до липидов мембран. Аргументы в пользу такого представления подробно рассмотрены в предыдущих разделах настоящей работы. Казалось бы, согласие с этим тезисом логически требует признания универсальности действия антиоксидантов, которые, понижая фоновый уровень свободнорадикальных реакций в клетке, уменьшают число стохастических повреждений в биоструктурах. Однако такое простое рассуждение противоречит фактам: не все проверенные в эксперименте антиоксиданты оказались геропротекторами, а геропротекторы в свою очередь активны только по отношению к определенным объектам. Так, по данным работы [128], 2-меркаптоэтиламин, испытанный на четырех линиях мышей, увеличивал на 29% среднюю продолжительность жизни мышей LAF, и был практически неактивен для линий AKR, Swiss и C3H. Антиоксидант 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол(ионол или ВНТ) не оказывал влияния на темп старения мышей C57BL и значительно увеличивал среднюю продолжительность жизни мышей линии BALB/C [129, 130]; авторы той и другой работы подчеркивают, что животные содержались в оптимальных условиях существования. Геропротектор хлоргидрат 2-этан-6-метил-3-оксиридина замедлял скорость старения мышей SHK и C3HA в 1,5—1,8 раза. Мыши SHK принадлежат к неинbredной популяции, для которой характерна высокая частота (50—90%) заболевания спонтанным раком молочной железы; использование этого соединения на мышах линии AKR, пора-

жаемых спонтанным лейкозом, не привело к успеху [131]. Конкретным причинам невоспроизводимости результатов в геронтологической литературе не уделено никакого внимания, констатируются лишь факты наличия или отсутствия активности у данного соединения. В этом отражается преимущественно эмпирический подход к проблеме. Как правило, в работах, посвященных замедлению старения химическими средствами, не приводится сколько-нибудь обоснованных методов выбора дозы препарата, используемого в хронических опытах на выживание; в лучшем случае предварительно изучаются токсические свойства. Что касается выбора дозы синтетических антиоксидантов, то следует учитывать прежде всего их взаимодействие с природными антиоксидантами, которое может привести как к торможению стохастических свободнорадикальных процессов и к увеличению надежности защитных систем организма, так и наоборот, вызвать активацию перекисного окисления и быстрое обеднение тканей антиоксидантами [64]. В работе [86] было показано, что диапазон доз хлоргидрата 2-этил-6-метил-3-оксирина, приемлемых для хронических опытов с лабораторными мышами, располагается в интервале от 75 до 300 мг/кг живого веса. Использование данного синтетического антиоксиданта в таких количествах в течение всей жизни животного позволяет поддерживать антиокислительную активность липидов (ее величина пропорциональна содержанию антиоксидантов в тканях) на повышенном, по сравнению с нормальным, уровне и компенсировать возрастную убыль природных антиоксидантов. Эффективность хлоргидрата 2-этил-6-метил-3-оксирида в отношении замедления старения дрозофилы зависит не только от его концентрации, но и от стадии развития, возраста имаго, пола, принадлежности к определенной линии. Оказалось, в частности, что самцы более чувствительны к геропротектору, чем самки: в опытах с самками наблюдалось увеличение лишь средней продолжительности жизни, тогда как в подопытных группах самцов увеличивалась и максимальная продолжительность жизни. Действие этого геропротектора на мух с перестроенным кариотипом линии  $R(1)2vv/y^+Y$  также существенно отличалось от его действия на линию дикого типа Д-32. У самцов линии  $R(1)2vv/y^+Y$  при концентрации препарата, равной 0,1 масс.%, увеличивалась на 20% средняя и максимальная продолжительность жизни, в то время как на самцов Д-32 эта концентрация препарата оказывала противоположное действие: скорость старения увеличивалась, продолжительность жизни сокращалась на 30% [132]. Уменьшение продолжительности жизни морских свинок, которое наблюдалось при использовании витамина С в дозах, в несколько раз превышающих физиологические, объясняется активацией свободнорадикального окисления липидов [133].

Известно, что постоянное добавление к рациону некоторых химических веществ может повлиять на потребление пищи. Эта важная сторона действия геропротекторов очень мало исследована. Влияние на аппетит и живой вес взрослых крыс антиоксиданта ионола было неоднозначным и зависело как от концентрации добавки, так и от состава пищи. Вес животных возрастал при увеличении концентрации ионола в корме до 0,5% и оставался постоянным при увеличении его содержания до 0,9%, а затем наблюдалось медленное его снижение. Если в корме содержалось не менее 13% белка, то допустимая доза антиоксиданта составляла 300 мг/кг живого веса в день; повышение содержания белка в 2 раза соответственно позволяло повысить безопасную дозу ионола [134]. Таким образом, воздействие одним и тем же химическим средством в разных дозах и при изменяющемся рационе может привести к противоположным результатам даже у одного вида животных.

К числу моделей экспериментальной геронтологии принадлежат биологические объекты разной степени сложности — от клеточных культур до млекопитающих. Чем сложнее объект, тем больше требований предъявляется к потенциальным геропротекторам, которые не должны грубо вмешиваться в метаболизм и нарушать ход нормальных физиологических процессов. Стимулятор деления гидрокортизон поддерживает ак-

тивную пролиферацию в старых клеточных культурах, т. е. является геропротектором для данного случая старения клеток, наблюдавшегося при культивировании [135]. Свойства стабилизаторов биомембран позволяют использовать кортикостероиды для замедления старения насекомых [136], ткани которых состоят в основном из популяций неделяющихся клеток, в которых с возрастом специфическая активность лизосомных ферментов увеличивается в 4—23 раза [137]. Однако результаты работы [138] дают основание для того, чтобы отвергнуть использование кортикостероидов в качестве геропротекторов для млекопитающих. Авторы показали, что постоянная стимуляция клеток печени гидрокортизоном оказывает отрицательное действие и приводит к нарушению генетической регуляции. При использовании гормонов исключение составляют только случаи заместительной терапии: продолжительность жизни мышей-карликов увеличивается под влиянием гормона роста [139]; старение аутоиммунных мышей замедляется преднизолоном и гидрокортизоном [140].

Витамин Е был успешно использован для замедления старения культивируемых диплоидных фибробластов человека, а также увеличивал продолжительность жизни дрозофилы и нематоды [141, 142]; однако многочисленные попытки замедлить старение лабораторных мышей показали либо очень малую эффективность токоферола, либо полное отсутствие его влияния на скорость старения. Между тем витамин Е, подобно синтетическим антиоксидантам — ионолу и сантохину (с последним имеется и структурное сходство) обладает похожим комплексом свойств, которые, возможно, определяют геропротекторную активность или сопутствуют ей [119]. Остается пока неизвестным, почему синтетические антиоксиданты эффективнее природных воздействуют на процесс старения млекопитающих. Можно предположить, что превышение физиологического уровня токоферола или аскорбата приводит к нарушению равновесия витаминов в организме [143]. Кроме того, высказывалось мнение, что функция витамина Е не сводится исключительно к антирадикальной активности [144].

Очень интересны, хотя и труднообъяснимы результаты работы [145], в которой установлено снижение возрастной смертности у мышей Swiss, родившихся от матерей, которые получали с пищей следующие антиоксиданты: сантохин — 0,2%; 2-меркатоэтиламин — 0,5%, витамин Е — 0,2%; гипофосфит натрия — 1% и смесь 0,2% сантохина и 1,0% гипофосфита натрия. Потомки содержались на постоянной диете без посторонних добавок. В возрасте 26 мес. среди самцов, матери которых потребляли 2-меркатоэтиламин и гипофосфит, доля выживших превышала контрольную величину на 26 и 8%; сантохин и 2-меркатоэтиламин уменьшили смертность самок на 13 и 23%. Витамин Е был неактивен. Интерпретация этого результата затруднительна, так как в сообщении нет никаких сведений о том, имели ли потомки какие-нибудь физиологические или биохимические особенности. Возможно, что в этом случае своеобразно отражается явление ферментативного импринтинга [146], при котором введение ксенобиотиков или других генных индукторов новорожденным животным вызывает у них стойкое (в течение 8 мес. и более) усиление адаптивного синтеза. Таким способом осуществляется фенотипическая коррекция симптомов некоторых наследственных заболеваний. В 1974 г. обратили внимание на то, что эффективные геропротекторы являются, как правило, индукторами микросомальных оксидаз [116]. Индуцирование детоксицирующей ферментной системы микросом является молекулярным механизмом мобилизации защитных сил организма против вредного воздействия химических компонент окружающей среды и особенно ярко проявляется в случае химического канцерогенеза, когда антиоксиданты-индукторы уменьшают число опухолей или предотвращают их возникновение [147, 148].

Результаты нескольких работ, в которых изучалось влияние антиоксидантов на процесс старения дрозофилы, показали, что наиболее важные события, детерминирующие продолжительность жизни, происходят

в раннем онтогенезе. Используя в качестве геропротектора хлоргидрат 2-этил-6-метил-3-оксипиридина, авторы работы [132] установили, что наблюдаемое в этом случае замедление старения дрозофилы не является следствием удлинения периода развития. Оказалось кроме того, что наибольший эффект достигается при воздействии в преимагинальной стадии или на молодых имаго, т. е. в тот период, когда фенотипические признаки старения еще отсутствуют. Чем старше имаго, тем менее эффективен геропротектор: воздействие, начатое в возрасте 20 дней и позже, практически безрезультатно. Предполагается, что в тех тканях личинки, из которых формируются органы взрослых мух (нервная ткань, имагинальные диски), накапливаются повреждения, приводящие впоследствии к старению. Регулируя скорость этих повреждений в личиночном периоде с помощью геропротектора или мутагена, можно повлиять на скорость старения взрослых особей. Старение дрозофилы, по мнению авторов, слагается из двух этапов: этапа накопления повреждений и этапа их реализации; наступление второго этапа требует не только определенного порогового уровня повреждений, но и времени, по истечении которого появляются фенотипические признаки старения. С достижением этого момента дальнейшее увеличение числа повреждений уже не оказывает заметного влияния на скорость старения. Так как эти этапы разделены во времени, то предполагается, что «субстратом старения» могут быть только макромолекулы, способные к длительному хранению информации о повреждающем воздействии, т. е. что наиболее подходящим кандидатом на роль субстрата старения являются молекулы хромосомной ДНК. Информация о повреждении других химических компонентов клетки не может быть непосредственно передана от личинок к взрослым особям, так как все остальные компоненты многократно обновляются в ходе метаморфоза.

Наличие возрастной критической грани, за которой воздействие теряет эффективность или приобретает противоположную направленность, отмечено в ряде работ. Изучая влияние  $\alpha$ -токоферилхинона на старение нематоды, авторы работы [149] обнаружили, что антиоксидант активен только по отношению к молодым животным; в 20-дневном возрасте замедлить старение не удалось. Возможно, что в присутствии антиоксиданта уменьшается число ошибок при синтезе мембран, который протекает наиболее интенсивно в первые 10 дней жизни нематоды [150]. Недавно опубликованы близкие результаты. Добавление молочной и глюконовой кислот в корм личинкам дрозофилы приводило к увеличению средней продолжительности жизни на 22%, а для молодых имаго воздействие было вдвое менее эффективным. Авторы полагают, что замедление старения достигается ингибицированием реакций радикала OH<sup>·</sup> [120].

Причины существования пороговых явлений при старении кроются, по-видимому, в соотношении скоростей накопления и reparации повреждений. Математическая трактовка обобщенной схемы процесса старения, учитывающей критические явления, дана в работе [127].

О защитном действии антиоксидантов в процессе возрастного накопления повреждений вторичной структуры ДНК свидетельствуют результаты работы [151]. Установлено, что при старении в ядерной ДНК печени мыши накапливаются повреждения, опознаваемые эндонуклеазой S1, по-видимому, однонитевые разрывы. Замедление старения у мышей, получавших антиоксидант, сопровождается снижением числа подобных дефектов.

Действие большинства геропротекторов лишено выраженной специфичности, оно многообразно. Неспецифическую активность антиоксидантов можно отчасти объяснить их участием в реакциях общего адаптивного синдрома, развитие которых происходит на фоне уменьшения антиокислительной активности тканей. В состоянии стресса активируются процессы перекисного окисления [64]. Антиоксиданты модифицируют скорость поступления в кровь кортикостероидов и снижают общую реакцию напряжения. Профилактическое введение антиоксидантов способствует адаптации в условиях экспериментального стресса [152].

Исследованиями последних лет была установлена принадлежность антиоксидантов к категории иммуноактивных соединений. У мышей, хронически получавших с пищей антиоксиданты (витамин Е, ионол, сантонин, 2-меркаптоэтиламин и др.), максимум гуморального ответа приходился на возраст 50—65 недель и превышал контрольные величины примерно вдвое. Реакции клеточного иммунитета усиливались в меньшей степени. Авторы работы [153] считают, что причиной продления жизни является восполнение возрастного иммунодефицита, которое достигается с помощью антиоксидантов. Более внимательное рассмотрение результатов этой работы не позволяет согласиться с таким выводом, так как стимуляция сменяется иммунодепрессией, которая в подопытных группах наступает даже раньше возрастного спада иммунной активности. Та группа мышей-долгожителей, за счет уменьшения скорости смертности которых создается эффект продления жизни, «доживает свои дни» при пониженном иммунном статусе. Иммунодепрессией логически можно объяснить факт замедления антиоксидантами развития амилоидоза, типичного старческого заболевания аутоиммунной природы [154]. Уменьшение скорости миграции и пролиферации стволовых кроветворных клеток у мышей отмечено при хроническом воздействии геропротектора из класса 3-оксиридинов. На фоне вызываемой препаратом иммунодепрессии наблюдалось увеличение в 1,5 раза латентного периода образования спонтанных опухолей молочной железы [155]. Этот же препарат вызывал нормализацию уровня адреналина в надпочечниках опухоленосителей, что, по мнению авторов работы [156], весьма существенно для исхода взаимоотношений опухоли и организма.

Приведенные экспериментальные данные отчасти проясняют вопрос, почему воздействие антиоксидантами лишено ярко выраженной специфичности, зависит от сложности объекта и часто проявляется в виде эффектов, на первый взгляд не имеющих явной взаимосвязи. Действительно, трудно объяснить одинаковой причиной полученные с одним и тем же антиоксидантом данные об уменьшении доли «дефектного белка» в клетках печени [157] и об изменении скорости миграции стволовых кроветворных клеток [155]. И хотя предположение о влиянии геропротектора в обоих случаях на «мембранный компонент» старения можно считать правдоподобным, для более точного ответа требуется фармакокинетическое исследование препарата. Вмешательство в свободнорадикальные реакции окисления, которые служат, по нашему мнению, универсальным фоном для процессов метаболизма, может реализоваться по принципу обнаружения «слабого звена» и приводить к изменению самых разных биохимических механизмов, ответственных за возрастные отклонения. Структурная и функциональная взаимосвязь клеток, тканей и органов обеспечивает сходство конечного результата возрастных изменений, обусловленных разными причинами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Прайор У. В кн.: Свободные радикалы в биологии, т. 1. М.: Мир, 1979, с. 13.
2. Козлов Ю. П. Свободные радикалы и их роль в нормальных и патологических процессах. М.: Изд. МГУ, 1973, 174 с.
3. Ажига Я. И., Каюшин Л. П., Никишкин Е. И. В сб.: Магнитный резонанс в биологии и медицине. Черноголовка, 1977, с. 128.
4. Emanuel N. M. Quart. Rev. Biophysics, 1976, v. 9, p. 286.
5. Duchesne Y., Van der Vorst A. Compt. rend., 1969, v. 268D, p. 1969.
6. Эмануэль Н. М. В кн.: Биологические возможности увеличения продолжительности жизни. Киев: Наукова думка, 1976, с. 103.
7. Fridovich I. Amer. Sci., 1975, v. 63, p. 54.
8. McCord J. M., Keele B. B., Fridovich I. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1971, v. 68, p. 1024.
9. Geschmann R., Gilbert D. L., Nye S. W., Dwyer P., Fenn W. O. Science, 1954, v. 119, p. 623.
10. Harman D. J. Gerontol., 1956, v. 11, p. 298.
11. Лэмб М. Биология старения. М.: Мир, 1980. 206 с.
12. Lindop P. J., Rotblat J. Proc. Roy. Soc., 1961, v. B154, p. 332.
13. Giess M. C. Gerontology, 1980, v. 26, p. 301.
14. Miquel J., Landgren P., Bensch K. Mech. Aging and Develop., 1975, v. 4, p. 41.

15. Honda S., Matsuo M. *Ibid.*, 1980, v. 12, p. 31.
16. Harman D. J. *Gerontol.*, 1971, v. 26, p. 451.
17. Driver C., Cosopodiots G. *Exp. Gerontol.*, 1979, v. 14, p. 95.
18. Haber F., Weiss J. *Proc. Roy. Soc.*, 1934, Ser. A, v. 147, p. 332.
19. Behar D., Czapski G., Rabani I., Dorfman L. M., Schwartz H. A. *J. Phys. Chem.*, 1970, v. 74, p. 3209.
20. Вартанян Л. С. Успехи химии, 1975, т. 44, с. 1851.
21. Афанасьев И. П. Там же, 1979, т. 48, с. 1014.
22. Фридович И. В кн.: Свободные радикалы в биологии, т. 1. М.: Мир, 1979, с. 272.
23. Fridovich I. *Adv. Enzymol.*, 1974, v. 41, p. 35.
24. Мишин В. М., Ляхович В. В. Успехи совр. биол., 1976, т. 82, с. 338.
25. Fong K. L., McKay P. B., Poyer J. L., Keele B. B., Mistra H. J. *Biol. Chem.*, 1973, v. 248, p. 7792.
26. Winterbourne C. *Biochem. J.*, 1979, v. 132, p. 625.
27. Nashikimi M., Machlin L. J. *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1975, v. 170, p. 684.
28. Гуськова Р. А., Иванов И. И., Кольтовор В. К., Рубин А. Б. *Докл. АН СССР*, 1980, т. 252, с. 999.
29. Mutsumura G., Herp A., Pigman W. *Rad. Res.*, 1966, v. 28, p. 735.
30. McCord J. M. *Science*, 1974, v. 185, p. 529.
31. Reiss U., Gershon D. *Eur. J. Biochem.*, 1976, v. 63, p. 617.
32. Rothstein M. *Mech. Aging and Develop.*, 1977, v. 6, p. 241.
33. Gershon D., Gershon H., Jacobus S., Reiss U., Reznick A. In: X Int. Congr. Gerontol. Jerusalem, 1975, v. 1, p. 39.
34. Massie H. R., Aiello V. R., Iodice A. A. *Mech. Aging and Develop.*, 1979, c. 10, p. 93.
35. Nohl H., Hegner D., Summer K. *Ibid.*, 1979, v. 11, p. 145.
36. Гуськова Р. А., Виленик М. М., Кольтовор В. К. *Stud. Biophys.*, 1979, v. 77, p. 43.
37. Crapo J. D., Tierney M. *Am. J. Physiol.*, 1974, v. 226, p. 1401.
38. Hassan H. M., Fridovich I. *J. Biol. Chem.*, 1977, v. 252, p. 7667.
39. Bartosz G., Leyko W., Fried R. *Experientia*, 1979, v. 35, p. 1194.
40. Бобырев В. Н. В кн.: Структура, биогенез и превращение липидов в организме животного и человека. Л.: Наука, 1978, с. 25.
41. Воскресенский О. Н., Безуглый Ю. В., Бобырев В. Н., Девяткина Т. А., Устяновская Т. И., Цебржинский О. И. В кн.: Искусственное увеличение видовой продолжительности жизни. М.: Наука, 1980, с. 21.
42. Massie H., Aiello V. R., Williams T. R. *Mech. Aging and Develop.*, 1980, v. 12, p. 279.
43. Bartosz G., Leyko W., Fried R. *Experientia*, 1979, v. 35, p. 1193.
44. Miller A. R. In: VIII Ann. Natl. Meeting Amer. Aging Ass. San Francisco, 1978, p. 13.
45. Hayflick L. *Exp. Cell Res.*, 1965, v. 37, p. 614.
46. Yamanaka N., Deamer D. *Physiol. Chem. Physics*, 1974, v. 6, p. 95.
47. Duncan M. R., Dell'Orco R. T., Kirk K. D. *J. Cell Physiol.*, 1979, v. 98, p. 437.
48. Cutler R. G. In: Adv. Exp. Med. and Biol. New York: Plenum Press, 1978, v. 129, p. 261.
49. Tolmasoff J. M., Ono T., Cutler R. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, v. 77, p. 2777.
50. Sacher G. A. *Bioscience*, 1978, v. 28, p. 491.
51. Paul B., Sbarra A. J. J. *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, v. 156, p. 168.
52. Мерзляк М. Н., Соболев А. С. В кн.: Молекулярные механизмы патологии клеточных мембран. М.: Изд. ВИНИТИ АН СССР, 1975, с. 119.
53. Politzer I. R., Griffin G. W., Laseter J. L. *Chem.-Biol. Interact.*, 1971, v. 3, p. 75.
54. Massie H. R., Williams T. R. *Gerontology*, 1980, v. 26, p. 16.
55. Barber A. A., Bernheim F. In: *Adv. Gerontol. Res.*, v. 2. New York, 1967, p. 355.
56. Packer L., Deamer D. W., Heath R. *Ibid.*, p. 77.
57. Gordon P. In: *Theoretical Aspects of Aging*. New York: Acad. Press, 1974, p. 61.
58. Pryor W. A. *Med. Chem.*, 1977, v. 5, p. 331.
59. Kritchevsky D. *Fed. Proc.*, 1979, v. 38, p. 2001.
60. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранных. М.: Наука, 1972. 252 с.
61. Лю Б. Н., Ефимов М. Л. Успехи совр. биол., 1976, т. 82, с. 236.
62. Bergström S. *Science*, 1967, v. 157, p. 382.
63. Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. М.: Наука, 1971. 221 с.
64. Бурлакова Е. Б., Алесенко А. В., Молочкова Е. М., Пальмина Н. П., Храпова Н. Г. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975. 214 с.
65. Козлов Ю. П., Данилов В. С., Каган В. Е., Ситковский М. В. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранных. М.: Изд. МГУ, 1972, 88 с.
66. Lucy J. A. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1972, v. 203, p. 4.
67. Tappel A. L. *Fed. Proc.*, 1973, v. 32, p. 1870.
68. Воскресенский О. Н., Левицкий А. П. Вопросы мед. химии, 1970, т. 16, с. 563.
69. Chio K. S., Tappel A. L. *Biochemistry*, 1969, v. 8, p. 2827.
70. Rouball W. T., Tappel A. L. *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1966, v. 113, p. 5.
71. McKnight R. C., Hunter F. E. *J. Biol. Chem.*, 1966, v. 241, p. 2757.
72. Gordon P. In: *Theoretical aspects of Aging*. New York: Acad. Press, 1974, p. 61.
73. Rubin M. S., Swistoski N. I., Sonenberg M. *Exp. Biol. Med.*, 1973, v. 142, p. 1008.
74. Emanuel N. M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1973, v. 222, p. 1010.
75. Воскресенский О. Н. В кн.: Биоантиокислители. М.: Наука, 1975, с. 121.

76. Mitsui Y., Matsuoka K., Aizama S., Noda K. In: *Adv. Exp. Med. Biol.* New York: Plenum Press, 1978, v. 129, p. 5.
77. Tappel A. L. *Fed. Proc.*, 1965, v. 24, p. 73.
78. Zalkin H., Tappel A. L. *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1960, v. 88, p. 113.
79. McCay C. B., Pfeifer P. M., Stipe W. H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1972, v. 203, p. 62.
80. Березовский В. Н. Химия витаминов. М.: Пищепромиздат, 1973. 632 с.
81. Журавлев А. И. В кн.: *Биоантиокислители*. М.: Наука, 1975, с. 15.
82. Иванов И. И., Мерзляк М. Н., Тарусов Б. Н. Там же, с. 30.
83. Редченко Л. И., Воскресенский О. Н., Максимович Я. Б., Браткова Р. С. В сб.: *Вопросы эволюционной и сравнительной витаминологии*. Киев: Наукова думка, 1968, с. 21.
84. Leibovitz B., Siegel B. V., Morton J. I. In: *VIII Ann. Natl. Meeting Amer. Aging Ass.*, San Francisco, 1978, p. 16.
85. Бурлакова Е. Б., Молочкина Е. М., Пальмина Н. П., Слепухина Л. Д. Вопр. мед. химии, 1976, т. 22, с. 541.
86. Пальмина Н. П., Обухова Л. К., Бунто Т. В., Смирнов Л. Д. Изв. АН СССР, Сер. биол., 1979, № 2, с. 290.
87. Comtoli R. *Experientia*, 1971, v. 27, p. 1166.
88. Лемешко В. В. *Биохимия*, 1980, т. 45, с. 1964.
89. Лемешко В. В., Никитченко Ю. В., Каллиман П. А. В сб.: *Молекулярные и клеточные механизмы старения*. Киев, 1981, с. 100.
90. Seversten T., Karlsen J., Froslie A. *Acta Veterin. Scand.*, 1977, v. 18, p. 494.
91. Hazelton G., Lang C. *Biochem. J.*, 1980, v. 181, p. 25.
92. Blizniakov E. C., Watanabe T., Saji S., Folkers K. *J. Med.*, 1978, v. 9, p. 337.
93. Harman D. J. *Gerontol.*, 1960, v. 15, p. 38.
94. Fisher W., Whanger P. D. *J. Nutr. Sci. and Vitaminol.*, 1977, v. 23, p. 273.
95. Стрелер Б. Время, клетки, старение. М.: Мир, 1964. 253 с.
96. Вертушков В. Т. Успехи современ. биол., 1977, т. 83, с. 357.
97. Tappel A. L. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1972, v. 203, p. 12.
98. Siakotos A. N., Armstrong D. In: *Neurobiol. Aging Interdiscipl. Life-Span Approach*, 1975, p. 369.
99. Blomquist E., Fridriksson B. A. *Ultrastruct. Pathol.*, 1980, v. 1, p. 11.
100. Sun A. Y., Sun G. Y. *Interdiscipl. Top. Gerontol.*, 1979, v. 15, p. 34.
101. Treff W. M. *Altern.* Stuttgart, 1974. 37 S.
102. Brizzee K. R., Knox C. In: *Adv. Exp. Med. and Biol.* New York: Plenum Press, 1978, v. 129, p. 71.
103. Reichel W., Hollander J., Clark J. H., Streler B. L. *J. Gerontol.*, 1968, v. 23, p. 71.
104. Young R. G., Tappel A. L. *Exp. Gerontol.*, 1978, v. 13, p. 457.
105. Donato H., Sohal R. S. *Ibid.*, 1978, v. 13, p. 171.
106. Sohal R. S., Donato H. *Ibid.*, 1978, v. 13, p. 335.
107. Sohal R. S., Donato H. *J. Gerontol.*, 1979, v. 34, p. 489.
108. Карнаухов В. Н. Функции каротиноидов в клетках животных. М.: Наука, 1975. 104 с.
109. Коркушко О. В., Иванов Л. П. Гипоксия и старение. Киев: Наукова думка, 1980. 274 с.
110. Яхнина Д. Н. Вопросы мед. химии, 1980, т. 26, с. 88.
111. Девяткина Т. А. Докл. АН СССР, 1978, т. 242, с. 449.
112. Бобырев В. Н., Воскресенский О. Н., Кожухова А. И., Обольникова Е. А., Самохвалов Г. И. В сб.: *Фармакология и токсикология*. Киев, Здоровья, 1980, вып. 19, с. 75.
113. Мищенко В. П., Бобырев В. Н., Зазыкина Д. С., Новикова О. Н. В кн.: *Актуальные проблемы витаминологии*, т. 1. М.: Медицина, 1978, с. 111.
114. Bender A. D., Kormendy C. G., Powdell R. *Exp. Gerontol.*, 1970, v. 5, p. 97.
115. Brunaud M. *Actual Pharmacol.*, 1971, v. 24, p. 1.
116. Comfort A. *Mech. Aging and Develop.*, 1974, v. 3, p. 1.
117. Hostman G. *Internal. J. Biochem.*, 1979, v. 10, p. 867.
118. Comfort A. *The Biology of Senescence*. Elsevier North Holland Inc., 1979, p. 414.
119. Обухова Л. К. Успехи химии, 1975, т. 44, с. 1914.
120. Massie H. R., Williams T. R. *Exp. Gerontol.*, 1979, v. 14, p. 109.
121. Miquel J., Economos A. C. *Ibid.*, 1979, v. 14, p. 279.
122. Анисимов В. Н., Кондрашова М. Н. Докл. АН СССР, 1979, т. 248, с. 1242.
123. Дильман В. М., Анисимов В. Н. Там же, 1979, т. 245, с. 753.
124. Dilman V. M., Anisimov V. N., Ostromova M. N., Morosov V. G., Khavinson V. Kh., Azarova M. A. *Oncology*, 1979, v. 36, p. 274.
125. Фролькис В. В., Богацкая Л. Н., Ступина С. А., Мурадян Х. К., Тимченко А. Н., Ковтун А. И. Докл. АН СССР, 1980, т. 251, с. 1009.
126. Юделева И. В., Комаров Л. В. В кн.: Искусственное увеличение видовой продолжительности жизни. М.: Наука, 1978, с. 18.
127. Эмануэль Н. М. Изв. АН СССР, сер. биол., 1975, № 4, с. 503.
128. Harman D. J. *Gerontol.*, 1968, v. 23, p. 476.
129. Kohn R. R. *Ibid.*, 1971, v. 26, p. 378.
130. Clapp N. K., Satterfield L. C., Bowles N. D. *Ibid.*, 1979, v. 34, p. 497.
131. Emanuel N. M., Obukhova L. K. *Exp. Gerontol.*, 1978, v. 13, p. 25.
132. Obukhova L. K., Nakaidze N. Sh., Serebryany A. M., Smirnov L. D., Akifiev A. P. *Ibid.*, 1979, v. 14, p. 335.
133. Davies J. E. W., Ellery P. M., Hughes R. E. *Ibid.*, 1977, v. 12, p. 215.

134. Durand G., Pascal G. Ann. Nutr. et Alim., 1973, v. 27, p. 11.
135. Cristofalo V. J., Hadley E., Viceps D. X Int. Congr. Gerontol. Jerusalem., 1975, v. 1, p. 94.
136. Hochschild R. Exp. Gerontol., 1971, v. 6, p. 133.
137. Webster G. C., Webster S. L. Ibid., 1978, v. 13, p. 343.
138. Акифьев А. П., Клименко В. В., Мутовин Г. Р. Изв. АН СССР, сер. биол., 1979, № 5, с. 747.
139. Fabris N., Pierpaoli W., Sorkin E. Nature, 1972 v. 240, p. 557.
140. Walker S. E., Anver M. R., Schechter S. L., Bole G. G. Kidney Int., 1978, v 14, p. 151.
141. Packer L., Smith J. R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1974, v. 71, p. 4763.
142. Harman D. Age, 1978, v. 1, p. 1.
143. Теруан Т Взаимодействие витаминов. М.: Мир, 1969, 180 с.
144. Аристархова С. А., Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г. Биофизика, 1973, т. 18, с. 857.
145. Harman D., Eddy D. E. Age, 1979, v. 2, p. 109.
146. Салганик Р. И., Соловьева Н. А., Мананкова Н. М. Докл. АН СССР, 1980, т. 253, с. 1480.
147. Wattenberg L. W., Loub W. D., Lam L. K., Speier J. L. Fed. Proc., 1976, v. 35, p. 1327.
148. Weisburger E. K., Evarts R. P., Wenk M. L Food and Cosmetics, Toxicol, 1977, v. 15, N 2, p. 139.
149. Epstein J., Gershon D. Mech. Aging and Develop., 1972, p. 257.
150. Gershon D. Exp. Gerontol., 1970, v. 5, p. 7.
151. Худолий Г. А., Обухова Л. К., Акифьев А. П. Докл. АН СССР, 1980, т. 254, с. 507.
152. Meerzon Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука, 1981. 278 с.
153. Harman D., Heidrick M. L., Eddy D. E. J. Am. Geriatr. Soc., 1977, v. 25, p. 400.
154. Harman D., Eddy D. E., Noffsinger J. Ibid., 1976, v. 24, p. 203.
155. Садовникова И. П., Обухова Л. К., Бунто Т. В. Изв. АН СССР, сер. биол., 1981, № 3, с. 451.
156. Стригун Л. М., Коновалова Н. П. В сб.: Актуальные проблемы экспериментальной химиотерапии опухолей. Черноголовка, 1980, с. 156.
157. Мамаев Б. В., Обухова Л. К., Волкова Н. М., Алексеев С. Б., Авакова А. Н., Степанова Л. Г. Биохимия, 1977, т. 42, с. 1261.

Институт химической физики  
АН СССР, Москва