

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ
РУССКОГО ФИЗИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

Русское Физическое Общество

**СТАРЕНИЕ ТКАНЕЙ – БЕЗ СТАРЕНИЯ КЛЕТОК:
УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ СТАРЕНИЯ
в ракурсе возрастных изменений эндотелия роговицы**

Артёмов А.В.
(Украина)

ЖУРНАЛ РУССКОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ МЫСЛИ

**ЖРФМ, 2013, № 1-12
(ЖРФХО, Т. 85, вып. № 1)**

**Продолжение научного журнала ЖРФХО
РУССКОГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА,
возобновивших свою общественную, научную
и издательскую деятельность в России
16 апреля 1991 г.**

Публикует:

- наиболее актуальные, полезные, оригинальные работы соотечественников в области естествознания;
- письма читателей и научные статьи, программы и методики, рекламу и технические предложения, анализ, обзор, прогноз;
- энергетика, экология, охрана здоровья, сельское хозяйство, промышленность, техника, технология, экономика, наука.

*Не чины и звания, ни возраст и профессия авторов,
а степень общественной пользы и оригинальность их мысли –
единственный критерий отбора работ для публикации*

Приоритетная защита всех публикуемых материалов. Предназначен для всех, кому не безразличны современные земные проблемы, кто ищет конкретное поле деятельности для эффективного приложения своих интеллектуальных способностей.

ДЕВИЗ ЖУРНАЛА:

« EXPERIMENTIA EST OPTIMA RERUM MAGISTRA »

« Практика – замечательной мысли наставница »

да Винчи

Резюме

Современная геронтология объясняет старение многоклеточных организмов старением клеток в результате накопления ошибок в геноме. Однако механизм развития повреждений не найден и теоретически не предсказан до сих пор. В то же время, старение, незаметное на уровне отдельных клеток и их генома, проявляется на уровне тканей как уменьшение числа клеток. Этот морфологический факт давно известен. Его объясняют старением и последующей гибелью клеток.

Морфологическое изучение возрастных изменений эндотелия роговицы впервые позволило обратить внимание на важнейшее обстоятельство: потеря клеток в ткани не увеличивается с возрастом, то есть не может быть следствием их старения. Этот возраст-независимый процесс опровергает сложившееся представление. Ткани функционально слабеют с возрастом в результате случайной гибели клеток.

Регулярная стохастическая гибель клеток может вызываться повторением случайной ошибки на транскрипционно-трансляционном уровне. Известно, что геном подвержен мутационному шуму. Точечные мутации возникают при каждом акте репарации. Они могут повторяться, но не накапливаются и не могут привести к старению генома. Однако мутационный шум содержит риск возникновения летальных мутаций. Например, повторение ошибки в синтезе белков, обеспечивающих контакт клетки с матриксом, инициирует мембрано-опосредованный апоптоз и гибель клеток в тканевых системах. Уменьшение клеток приводит к потере функциональных возможностей тканей. Это сопровождается функциональным ослаблением на системном уровне. Так, через случайную гибель клеток возникает деградация тканей в результате уменьшения клеточной численности.

Таким образом, старение – это стохастическая гибель клеток в тканях в результате информационной ошибки при синтезе белков. Старение организма – это старение тканей, происходящее без старения клеток. Старение – результат информационной неустойчивости генома, а не следствие его возрастной деградации.

Введение

Безуспешные поиски на протяжении истекшего столетия морфо-функционального субстрата, отличающего возрастные изменения от других патологических процессов, сделали проблему старения не только медико-биологической, но и гносеологической. К её решению подключены специалисты различных отраслей науки. В частности, *глобальная научная программа борьбы со старением*, принятая в Российской Федерации и обнародованная на страницах Интернета в конце 2008 года, особо полагается на молекулярных биологов, генетиков, биохимиков, цитологов и даже математиков.

Тема старения давно перестала быть медицинской прерогативой, хотя именно медицина призвана бороться с любыми патологическими состояниями. Однако для того, чтобы лечить патологию, её надо сначала диагностировать. Вместе с тем, чётко видя признаки старения на уровне целого организма, медицинская патология не может дать его морфо-функциональную характеристику.

Неудачные попытки увидеть специфику возрастных изменений на системном или тканевом уровне привели к тому, что изучение механизма старения превратилось по сути в поиск тончайших молекулярных отклонений в глубинах клеточного генома. С другой стороны, вызывает недоумение то, что за шесть с лишним десятилетий своего существования молекулярная биология ни фактически, ни даже теоретически не смогла обозначить структурный эквивалент повреждений, которые накапливаются в клеточном геноме с возрастом.

Конечно, имеются попытки теоретического предсказания молекулярно-биологического механизма старения. Однако эти идеи не выходят за рамки заимствования известного механизма потери теломера и, конечно, не вдохновляют на реальные поиски, которые в 70-х годах прошлого века были инициированы теоретическим предсказанием А.М. Оловникова, подтвердившимся к концу 80-х годов.

Учитывая безуспешность попыток объяснения молекулярно-генетического механизма старения на фоне значительных успехов, которых достигла молекулярная биология, мы вправе говорить о своеобразном кризисе в геронтологии: невозможности объяснить старение целого (организма) через старение его элементарной структуры, то есть клетки и её генома.

Предлагаемая здесь концепция отходит от стереотипного взгляда на старение организма как следствие возрастной деградации генома. Прежде всего, необходимо отметить, что тезис о возрастной обречённости ДНК во многих отношениях некорректен. Фактически, он подгоняется под объяснение старения на системном уровне, так как не имеет подтверждений в виде конкретных фактов.

В действительности, ДНК, являвшаяся единственной самостоятельной формой жизни на заре эволюции, сохранила на необозримо длинном пути, предшествующем появлению многоклеточных организмов, основные элементы (гены). Именно благодаря этому мы можем проникнуть к истокам эволюционного процесса. Ведь, если бы существовал механизм накопления ошибок, примитивные геномы не смогли бы просуществовать миллионы лет, выполняя попеременно функции организма и носителя генетической информации. При этом многоклеточные организмы, разительно отличающиеся по сложности организации и далеко отстоящие по времени появления, не могли бы содержать сходные с одноклеточными предшественниками гены.

Феномен старения, который не удаётся увидеть на уровне ДНК, становится заметным на уровне многоклеточных организмов. Однако, видя старение на уровне организма, его безоговорочно приписывают клеточному геному, игнорируя длительный эволюционный путь, сохранивший ДНК от разрушения.

Рассматривая старение как фрактальный процесс, необходимо учитывать, что эволюционное усложнение привело не к механическому объединению клеток, а к появлению новой структурной единицы – ткани. Лишь увидев в ткани принципиально новую структуру, не существовавшую на уровне Protozoa, можно понять феномен старения как результат эволюционного усложнения. Нет оснований прямолинейно отождествлять старение Metazoa со старением ДНК, явившейся первоисточником жизни, и старение которой мы не видим на уровне одноклеточных организмов и прокариотов.

Мы впервые обращаем внимание на то, что старение – это проявление возрастной неустойчивости ткани. В сообществе одноклеточных организмов нельзя увидеть старение, однако смерть присутствует и здесь. Случайная смерть клетки, которая мало ощутима для сообщества одноклеточных организмов, в многоклеточном организме становится разрушающим фактором. Постепенное уменьшение клеточной численности в тканях и органах, в основе которого лежит случайная смерть клеток, предстаёт как старение целого организма. Однако прежде чем представить механизм возрастной деградации ткани без старения клеток, обратимся к истокам главной геронтологической проблемы.

Центральная догма геронтологии как причина кризиса

В отличие от хорошо известной центральной догмы молекулярной биологии, предложенной более полувека назад Криком на пике выдающихся открытий, в геронтологии не декларировалась конкретная парадигма. Вместе с тем, тезис о старении клетки как причине старения целостного организма со времени создания теории клеточной патологии принял характер аподиктического суждения: если стареет организм в целом (что очевидно), то должны стареть и отдельные клетки, из которых он состоит (хотя этого и не видно).

Действительно, старение как системный патологический процесс подразумевает, что старый организм должен иметь старые органы, а те в свою очередь – старые ткани. Продолжением этой логической цепочки становится вывод, что старые ткани являются совокупностью старых клеток, так как именно клетки и синтезируемое ими межклеточное вещество являются структурной основой тканей. Таким образом, определив клетку как элементарную структуру организма, биология и медицина перенесли на неё и сам процесс старения. При этом хорошо заметные на уровне целостного организма возрастные изменения стали отождествляться с невидимым старением клетки, презумптивно связываемым с деградацией генома.

При множестве противостоящих друг другу концепций и теорий старения, в которых геронтология никогда не испытывала недостатка, этот тезис никогда не подвергался сомнению. Тезис о старении клетки давно приобрёл характер догмата. Как истинный

«символ веры» он не обсуждается, хотя его подтверждения не удается найти до сих пор, несмотря на многочисленные молекулярно-биологические открытия, которые имели место за прошедшие полвека, отделяющие нас от раскрытия генетического кода.

Старение остается едва ли не единственным патологическим процессом, который нельзя описать в терминах общей или частной патологии. Так, наиболее распространённое определение старения, которое не вызывает возражений, характеризует его как *постепенное снижение функциональных и адаптационных возможностей организма в целом, а также его органов и тканей, в результате чего увеличивается вероятность развития различных заболеваний и смерти.*

В данном определении отражены лишь видимые проявления старения. Биологическая суть и причина здесь не видны, поэтому нельзя провести чёткую границу между старением и другими патологическими процессами (болезнями), которые также способны приводить к *снижению функциональных и адаптационных возможностей.*

Стоит отметить, что при множестве попыток найти внутриклеточный эквивалент старения, кроме широко известного с начала прошлого века липофусцина, трудно привести пример какого-либо ещё морфологического субстрата, приобретшего такую же популярность в качестве фактора старения. Количественное определение липофусцина до сих пор используется во многих геронтологических исследованиях для оценки возраста различных животных объектов.

Возраст-зависимый характер накопления липофусцина в отдельных тканях человека и животных очевиден. Однако утверждение, что липофусцин старит клетку, равносильно тому, что «годовые» кольца разрушают деревья, хотя они точнее ассоциируют с возрастом многих растительных объектов. Ещё в середине прошлого века были высказаны обоснованные сомнения касательно деструктивной роли липофусцина (Давыдовский, 1966). Кроме того, стоит отметить, что данный пигмент не является продуктом деградации какой-либо внутриклеточной структуры. Его основным компонентом является гликопротеин, синтезируемый в клетке. Поэтому было бы нелогичным, говоря о старении клетки как суммации повреждений, отождествлять его с увеличением синтеза белка. Признавая в качестве структурного эквива-

лента возрастного разрушения продукт синтетической деятельности, мы сами же ставим под сомнение деградиционный характер старения.

Учитывая неудачи прошедшего столетия, современная геронтология оставила прямолинейные попытки начала прошлого века, связанные с поиском конкретного биохимического субстрата старения. Так как любое метаболическое событие в клетке задано транскрипционно-трансляционным механизмом, контролируемым геномом, то и старение привязывают к возрастным изменениям в структуре ДНК.

С методологической точки зрения такой подход можно понять, если рассматривать старение организма как следствие старения клетки. Вопрос лишь в том, сколь долго наука может следовать принципу, не приносящему реальных результатов? Ведь тезис о старении клетки взят за основу только потому, что этого требует сложившийся стереотип мышления. Этот стереотип не допускает патологии ткани без патологии клеток.

Старение организма – без старения клеток

Интересно отметить, что данный тезис перекликается с известным философским изречением Демокрита, назвавшем старение *повреждением всего организма при полной неповрежденности составляющих его частей*. Возможно, античный предсказатель атомистического устройства материи интуитивно предчувствовал, что механизм старения лежит в нарушении взаимоотношений между целым и его элементами, а не просто в повреждении последних.

Создание данной концепции старения непосредственно не связано с критическим анализом геронтологической догмы. Напротив, отказ от неё произошёл после того, как был найден принципиальный механизм старения. Однако многочисленные сомнения в том, что клетка действительно стареет, постоянно были в фокусе исследования. Окончательный отказ от догмата клеточного старения был связан не с тем, что последнее не найдено, а с тем, что таковое не требуется для объяснения старения организма: процесс возрастной деградации был увиден как уменьшение клеточной численности тканевых систем.

Само обстоятельство, что уменьшение числа клеток в тканевой системе может привести к нарушению функциональных и

адаптационных способностей, не вызывает возражений, как и тот факт, что такое уменьшение с возрастом, действительно, происходит. Однако для того, чтобы за фактом уменьшения клеток увидеть следствие давно известного молекулярно-биологического феномена, необходимо отказаться от догмата, связанного со старением клетки.

Нельзя сказать, что сама идея об отсутствии старения отдельных клеток неожиданна для биологии и медицины: именно с неё, по сути, начинались геронтологические эксперименты прошлого века. Так, сначала С.Метальников и Вудрофф экспериментально продемонстрировали бессмертие одноклеточных организмов, а позднее, в 30-х гг. прошлого века, А.Каррель в классических экспериментах с культивированием эмбриональных клеток также подтвердил их безграничную способность к пролиферации.

Однако эти исследования, давно известные в биологии и медицине, не были спроецированы на проблему старения многоклеточных организмов. Отчасти это обусловлено тем, что они отражают лишь способность отдельных клеток к самовоспроизведению. В то же время, клетки, находящиеся в составе тканей организма, в большинстве случаев не подлежат обновлению.

Таким образом, старение высокоорганизованных животных организмов необходимо рассматривать, в первую очередь, как старение необновляющихся тканевых систем. Вместе с тем, нет оснований считать, что условием нестарения генома является постоянное деление. Такой вывод некорректен: в природе не существует постоянно делящихся живых объектов. Даже для простейших прокариотических сообществ характерно чередование периодов размножения и стационарного существования. Так, бактерии могут длительное время (иногда годами) находиться в неблагоприятных условиях, исключающих их деление, сохраняя способность к последующей репликации. Одноклеточный организм также может выполнять в разные периоды времени функции организма или герминативной клетки.

Как уже говорилось выше, способность генома поддерживать свою нативную структуру в интермитотическом состоянии может исчезнуть в клетках многоклеточных организмов, так как при переходе от одноклеточных к многоклеточным формам ДНК не изменяет своей молекулярной организации. Наиболее яркой

иллюстрацией этого тезиса являются клетки, обеспечивающие герминативную функцию.

Герминативная система – это не непрерывно пролиферирующий клон, а *ткань*, клетки которой большую часть жизни (до начала созревания) находятся в интермитотическом состоянии. Например, у человека процесс созревания половых клеток занимает всего несколько недель и сопровождается выходом из интермитотического состояния отдельных клеток герминативной ткани. Если учесть, что пик фертильности приходится на 25–30 лет, то очевидно, что до этого срока клетки сперматогенного эпителия не стареют. В противном случае, накопленные возрастные дефекты передались бы следующим поколениям и через 2–3 генерации произошло бы вырождение. Если добавить нередкие случаи мужской фертильности в 50–60 лет, за которыми также не прослеживается дегенерация потомства, то вопрос о старении клеток сперматогенного эпителия вообще теряет актуальность.

Таким образом, совершенно очевидно, что у герминативных клеток нельзя заметить какие-либо признаки старения к тому времени, когда организм уже имеет явные черты возрастных изменений. Можно ли говорить, что это уникальное свойство только одной тканевой системы, а клетки остальных тканей стареют?

Подобное разделение клеточных геномов – на стареющие и нестареющие – было бы чрезвычайно некорректным, ставящим под сомнение универсальность старения ДНК. С другой стороны, выше речь шла лишь о способности отдельных клеток давать полноценное потомство в любом возрасте. Вместе с тем, женщина, как правило, способна родить полноценного ребёнка в 40–45 лет, через несколько лет полностью лишается такой возможности. То же можно сказать и о мужчине, хотя здесь возрастной рубеж бесплодия сдвинут к 70–80 годам.

Хорошо зная об этих обстоятельствах, мы не обращаем внимания на важный медико-биологический нюанс: за возрастным угасанием герминативной функции нельзя увидеть старения отдельных герминативных клеток. Здесь можно говорить только о старении тканевой системы, которое предстаёт как потеря необходимого количества клеток, способных совершать указанную функцию.

Так, если для продолжения потомства достаточно наличия в яичнике всего одной яйцеклетки, то для её оплодотворения

необходимо множество сперматозоидов. Точно также в любой другой ткани есть клеточный предел, ниже которого она не может выполнять в организме свою интегральную функцию. Как очевидно, функциональное состояние различных тканей в организме определяется количеством клеток, а их возрастное уменьшение, несомненно, приведёт к угасанию функциональных и адаптационных возможностей тканевых систем, органов и организма в целом.

За этими известными фактами нетрудно увидеть поверхность и некорректность широко известного афористического тезиса: «старением дифференцированных клеток организм расплачивается за бессмертие половых клеток». Бессмертие половых клеток в организме – это абстракция: половая функция также угасает с возрастом, как и другие, что не требует доказательств, кроме тех, которые известны из клинической практики. Чего мы действительно не видим, так это старения половых клеток, то есть того, как с возрастом нарушается их способность к воспроизведению нормального потомства. Но ведь это не найдено (а только предполагается) и для клеток дифференцированных тканей!

Очевидно, что герминативная функция, как и все другие, угасает с возрастом. Однако в ходе этого угасания отдельные клетки до конца сохраняют способность к формированию полноценного потомства. На примере герминативной ткани видно, что она подвержена старению, которое связано с исчезновением клеток, а не с возрастной неполноценностью отдельных «состарившихся» клеток. Этот пример даёт возможность задуматься о старении тканевой системы без старения клеток.

Способность к «продолжению рода» прослеживается и у клеток соматических тканей. Так, многочисленные экспериментальные данные показывают, что клетки, взятые из тканей старого организма не проявляют признаков дегенерации при культивировании *in vitro*. Известны примеры успешного культивирования взрослых стволовых клеток, полученных из соматических тканей пожилых и старых людей. В частности, есть сообщения о получении взрослых стволовых клеток пигментного эпителия сетчатки от 80-летнего человека (Запорожан, Бажора, 2004).

Если клетки, взятые из ткани старого человека, можно культивировать в виде стволового (ювенильного) клона, то в чём

же тогда смысл старения клетки? Ведь именно с помощью стволовых клеток регенеративная медицина планирует лечить болезни, связанные с возрастной дегенерацией.

В этой связи стоит обратить внимание, что способность к делению и созданию себе подобных – это одно из основных проявлений жизнеспособности. Мы безуспешно ищем признаки возрастной дегенерации клетки, однако именно утраты жизнеспособности, предписываемой геронтологической догмой, нельзя выявить у отдельно взятых клеток. Напротив, мы видим, что клетки старого организма не проявляет ущербности в реализации основной функции живой материи – способности создания себе подобных.

Ещё один пример нестарения соматических клеток дают нам низкоорганизованные представители животного мира. Так, натуралисты ещё в 18–19 веке начали говорить о потенциальном бессмертии таких простейших многоклеточных организмов, как, например, губки, полипы, мшанки, асцидии. Некоторые биологи бессмертие таких организмов связывают с созданием моноколоний из повторяющихся взаимозаменяемых сходных модулей (Макрушин, 2007). Возраст таких гигантских колоний-организмов иногда оценивают от нескольких сот до тысяч лет. Так, например, возраст экземпляра из моря Росса, претендующего на роль возрастного рекордсмена, оценён в пределах 15–23 тысяч лет с поправкой на возможные колебания температуры среды обитания, влияющие на скорость роста и размеры моноколонии (Gatti, 2002).

Представленный пример потенциального бессмертия многоклеточных колоний важен тем, что позволяет разглядеть общебиологический принцип: старение не присуще ни герминативным, ни соматическим клеткам. Ведь гигантская моноколония – это совокупность постоянно возобновляемых примитивных тканевых систем-модулей, образующихся за счёт деления отдельных соматических клеток.

Если подходить к феномену тысячелетнего существования таких примитивных многоклеточных организмов с позиций предлагаемой концепции, то можно увидеть, что старение здесь также происходит. Это – старение тканей, причём довольно быстрое, если, например, ориентироваться на морфологические наблюдения, свидетельствующие о высоком темпе апоптической элиминации клеток в тканях гидры. Однако презумптивного

старения клеток здесь, действительно, нельзя увидеть. Через сотни и даже тысячи лет отдельные клетки примитивного многоклеточного организма не утрачивают способности к воссозданию новых тканевых модулей, демонстрируя универсальность принципа – *стареют не клетки, а ткани*.

Как уже обозначено выше, согласно предлагаемой концепции, старение – это феномен, возникающий на уровне клеточных ассоциаций (тканевых систем). Именно поэтому его нельзя увидеть у одноклеточных организмов, а у некоторых примитивных многоклеточных оно может идти параллельно с процессом воспроизведения новых тканевых систем в результате деления соматических клеток. Старение тканей, неизбежное и для простейших многоклеточных, не мешает их тысячелетнему существованию: вместо деградировавших в результате апоптической элиминации тканевых модулей, возникают новые. Здесь можно говорить о потенциальном бессмертии – но не исходной совокупности тканей, а о соматически возобновляющейся тканевой «биомассе». Причина такого бессмертия в том, что соматическим клеткам, также как и герминативным, не свойственно старение.

На примере таких примитивных организмов можно увидеть, как присущий всем соматическим клеткам пролиферативный потенциал, в форме опухолевого процесса губительно дезорганизующий существование высокоорганизованных существ, может противостоять старению. На примитивном уровне тканевой организации, старение перестаёт быть абсолютным фактором ограничивающим существование индивидуальности. Это было бы невозможно, если бы старение индивидуальности (в том числе, и такой примитивной как у гидры) происходило на уровне клеток, а не на уровне тканей.

С усложнением тканевых систем способность отдельных клеток к пролиферации не утрачивается. Однако это вступает в противоречие с высоким уровнем тканевой организации. Бессмертие соматического клона мы можем увидеть и у человека, но уже вне организма, давшего ему существование (например, широко известная в экспериментальной онкологии HeLa-карцинома существует уже шесть десятилетий после смерти хозяина).

Посмертные изменения тканевой системы в условиях консервации: «неживая» ткань – при живых клетках

Конечно, не вызывает сомнения, что для нормального функционирования ткани необходимо наличие в ней здоровых клеток. Однако иногда при жизнеспособных клетках ткань может оказаться нежизнеспособной. Увидеть эту необычную ситуацию можно при использовании трупных тканей и органов для трансплантации. Так, анализ фактов, связанных с консервацией роговицы стал одним из главных обстоятельств, позволивших усомниться в том, что без старения клетки не может произойти старение организма. Обратившись к изменениям ткани в условиях консервации, мы получаем возможность увидеть то, как при жизнеспособных клетках ткань становится нежизнеспособной. С этих позиций мысль о том, что старение организма может происходить без старения составляющих его клеток, теряет свой первоначальный оттенок парадокса, не позволявшего исследователям по-иному взглянуть на природу старения.

Прежде всего, стоит обратить внимание на известное обстоятельство: при криоконсервации (то есть при температуре жидкого азота) хорошо сохраняются эмбриональные, стволовые, опухолевые и др. клетки. Этот метод стал табельным в регенерационной медицине. Однако в трансплантологии криоконсервация не получила применения, даже для хранения такой простой тканевой структуры как роговица.

Если оплодотворенная яйцеклетка может годами сохраняться в этих условиях, давая затем нормальное развитие эмбриона, то почему нельзя сохранить клетки роговицы? Однако, дело не в отдельных клетках, которые в роговице также хорошо сохраняются, чему есть немало экспериментальных подтверждений. Здесь возникает важнейший вопрос медико-биологического значения: почему в одних и тех же условиях (в данном случае при криоконсервации) выживают отдельные клетки, но нельзя сохранить жизнеспособную ткань?

Аналогичная ситуация наблюдается при холодовой консервации, то есть хранении при температуре +4 градусов Цельсия в условиях влажной камеры или в жидких средах. Так, в этих условиях можно надёжно обеспечить витальные функции трансплантата не более 3–4 дней. Офтальмотрансплантологическая

практика не предусматривает использования донорской роговицы, хранившейся в условиях холодовой консервации более 7 дней, для кератопластики с оптической целью. С точки зрения клиники, такой трансплантат уже нежизнеспособен. Однако и здесь потерю жизнеспособности роговицы нельзя связать с патологическими изменениями клеток. Если из подобной «нежизнеспособной» роговицы приготовить образцы для культуры ткани, то клетки всех роговичных слоев обнаруживают нормальный рост *in vitro*. Более того, роговичные клетки сохраняют способность расти *in vitro* даже через 2–3 недели после холодового хранения (Войно-Ясенецкий, 1965). Иначе говоря, когда роговица уже абсолютно непригодна для пересадки (то есть нежизнеспособна как тканевой трансплантат), её клетки вполне жизнеспособны – они делятся и образуют культуру ткани.

Несовпадение клинических представлений о жизнеспособности роговицы с биологическими можно объяснить тем, что в каждом случае оцениваются разные объекты. В клиническом плане важна прежде всего жизнеспособность роговицы как целостной ткани, а в эксперименте *in vitro* мы видим жизнеспособность роговичных клеток вне связи с тканевой системой. Иначе говоря, выживание клеток автоматически не обеспечивает жизнеспособность целостной ткани.

Таким образом, становится очевидным, что функциональная дискредитация ткани может иметь место при жизнеспособных клетках. Этот вывод, который мы можем сделать анализируя поведение донорской роговицы в условиях консервации, подводит нас к пониманию важнейшей медико-биологической закономерности: **биологическая смерть тканевой системы может происходить без повреждения клеток.**

Анализ этой проблемы позволил обратить внимание на особую роль контактов клетки с внеклеточным матриксом в поддержании жизнеспособности ткани. Как можно убедиться, клетки не погибают в условиях длительной консервации. Сохранность клеточных мембран, автоматически сохраняет внутриклеточную компартиментализацию. В отличие от самой клетки внеклеточный матрикс не компартиментализован. В тканевой системе сохранность контактов между клеточной мембраной и матриксом обеспечивается метаболизмом клетки, который прекращается в условиях холодового хранения и криоконсервации.

Именно поэтому мы можем бесконечно долго сохранять отдельные клетки, но не можем в этих же условиях обеспечить жизнеспособность тканей и органов, так как при этом нельзя сохранить в нативном состоянии связи между макромолекулами матрикса и клеточной мембраны.

Таким образом, опыт консервации роговицы подводит нас к пониманию важной медико-биологической закономерности, которая позволяет критически отнестись к теории клеточной патологии Вирхова, видевшей клетку центральным звеном всех патологических процессов, а ткань – федерацией клеток. Клетка, постоянно являясь участником патологического процесса, не всегда становится непосредственной его мишенью, то есть патологический процесс (как в нашем случае гибель ткани в условиях консервации) может протекать без патологии самой клетки. При низких температурах деградационные процессы в клетке прекращаются, что позволяет сохранять её бесконечно долго. Однако при этом клетка перестаёт обеспечивать метаболизм внеклеточного матрикса, что ведёт к потере межмолекулярных связей между клеткой и матриксом. Причиной этого может быть, например, водородный обмен между белковыми молекулами, не прекращающийся и при низких температурах, когда метаболические процессы отсутствуют. Так, выживая сама, клетка перестаёт работать на сохранение тканевой системы.

Изучение необычных взаимоотношений между клетками и тканью в процессе консервации не имеет прямой связи с геронтологией. Однако это позволило в ином ракурсе взглянуть на возрастные изменения роговичного эндотелия, к которым мы обратимся далее. Указанные наблюдения поставили под сомнение сам принцип, согласно которому патологию ткани всегда можно представить как сумму патологий отдельных клеток, а старый организм неизбежно должен состоять из старых клеток. Это обстоятельство сыграло важнейшую роль в разрушении отмеченного выше стереотипа мышления.

Апоптоз и механизм старения

Основная идея предлагаемой концепции заключается в том, что процесс старения не связан с накоплением патологических изменений в клетке. Мы впервые обращаем внимание на регулярное снижение численности клеток в тканях организма в

результате их случайной апоптической элиминации, а не возрастной дегенерации, происходящей в клеточном геноме. Именно объяснение того, каким образом апоптоз способен регулярно устранять клетки в условиях физиологического существования, то есть вне связи с повреждением или другими вредоносными воздействиями, ведёт к пониманию такого механизма старения, где главным участником становится ткань, а не клетка.

Сам факт уменьшения клеток в тканях давно известен. Ещё И.И.Мечников связывал старение с уменьшением численности «благородных» (паренхиматозных) клеток. По мнению В.В.Фролькиса (1989), уменьшение количества клеточных элементов само по себе может сказаться на деятельности органа или ткани, а из-за уменьшения количества клеточных элементов при старении могут снижаться резервные возможности органов.

Как видно, связь старческой «немогости» с потерей клеточных элементов не вызывает сомнений. Однако этому явлению не придавали особого внимания, считая его следствием старения самих клеток. Медико-биологическое мышление прошедшего века не допускало того, что клетка может погибнуть без повреждения или старения, в частности. Открытие в конце прошедшего века феномена апоптоза меняет этот стереотип. Интересно отметить, что впервые на морфологическую картину этого явления ещё в 1914 году обратил внимание Гарпер (Garper), назвав его физиологической элиминацией клеток, что точнее образом отражает современные представления о нём. Повторное открытие этого феномена, уже под названием «апоптоз», сделано Керром и соавторами (Kerr et al, 1972). Тогда же впервые было указано на возможную связь этого явления со старением. Однако в последнее десятилетие интенсивного изучения апоптоза основное внимание было сконцентрировано на молекулярно-биохимических нюансах этого явления, что отодвинуло на задний план выяснение его общебиологической роли.

В уникальном феномене, имеющем не только биохимические, но и чёткие морфологические черты, иногда видят лишь своеобразного «могильщика» состарившихся клеток. Так, согласно появившемуся в последнее время мнению, должно наступить невидимое старение клетки, чтобы произошла морфологически осязаемая апоптическая фрагментация. При этом забывают, что апоптоз может развиваться без предварительного повреждения

клетки, за что и получил специфическую характеристику – «информационная смерть клетки».

Для автора, обращение к феномену апоптоза явилось решающим фактором при создании данной концепции. Именно известное обстоятельство, что апоптоз может развиваться без предварительного повреждения клетки, позволило отказаться от геронтологической догмы, требующей непереносимого старения клетки. Если ещё несколько десятилетий назад не было медико-биологических оснований связывать уменьшение числа клеток в тканях иначе, как с повреждением или накоплением в них возрастных поломок, то теперь эта прерогатива перестала быть актуальной. Чтобы исчезнуть из ткани и тем самым сделать её функционально слабее, клетке «не требуется» накапливать поломки, то есть стареть. Апоптотический механизм, генетически заложенный в клетке и не нуждающийся в дополнительных её повреждениях, сам по себе способен уменьшать количество клеток в тканях.

Для окончательного признания ключевой роли апоптоза в старении, о которой предполагали ещё открыватели этого феномена, необходимо понять, каким образом апоптоз может регулярно возникать в тканях в условиях их физиологического существования. Иначе говоря, необходимо найти тот спонтанный *информационный сигнал*, который регулярно инициирует апоптотическую элиминацию клеток из тканей.

Под таким сигналом в современной патофизиологии обычно понимают различные биомолекулы, сами по себе физиологически неопасные, но способные через мембранные рецепторы вызвать апоптоз клетки, предрасположенной к данному воздействию. Экспериментальное изучение апоптоза связано с поиском таких внешних сигналов. Однако при этом опускается из внимания, что инициирующим моментом может стать не только внешний сигнал, но и спонтанное внутреннее изменение в метаболизме.

Как уже отмечалось, с момента своего обнаружения апоптоз рассматривался как физиологический процесс, в том числе каким-то образом связанный со старением. Однако следование геронтологической догме не позволило увидеть, что *апоптоз – главная причина старения, заложенная в самой клетке как механизм её случайной смерти*. Регулярно происходящая на протяжении всей жизни апоптотическая элиминация клеток способна

сделать ткани функционально слабее, что проявится в виде известного феномена старения на системном и организменном уровне.

Теоретически это вполне допустимо. Однако почему апоптоз должен регулярно возникать в тканях, находящихся в физиологических условиях и не получающих негативных сигналов из вне? Установление этого обстоятельства является решающим для понимания апоптоза как фактора старения. Иначе говоря, необходимо увидеть причину, по которой апоптоз может возникать в тканях без внешних воздействий, в силу специфики тканевой системы, отличающей её существование от существования отдельных клеток.

Теоретическое обоснование апоптотического механизма старения

Если мы посмотрим на тканевую систему, находящуюся в физиологических условиях, то увидим важное обстоятельство, отличающее ткань от простой федерации клеток. Как известно, условием нормального функционирования дифференцированной ткани является связь клеток с внеклеточным матриксом, вырабатываемым самой клеткой и её соседями. Нарушение этой связи ведёт к гибели ткани, хотя клетки, как показано выше на примере холодовой консервации роговицы, могут оставаться жизнеспособными. Связь клетки с внеклеточным матриксом обеспечивают специфические белки (интегрины, кадгеринины и др.), на характеристике которых здесь нет необходимости останавливаться.

Ещё одной важной особенностью клеток дифференцированных тканей является то, что их ДНК лишена теломер и теломеразной активности. Поэтому клетки дифференцированных тканей не способны к делению. Отсутствие теломеразной активности и необходимость контактов с внеклеточным матриксом – это важнейшие особенности ткани. Они стали известны в последнее десятилетие, но уже вошли в некоторые современные учебники патофизиологии.

Именно это позволило сформулировать следующий тезис: *все клетки дифференцированных тканей в организме из-за отсутствия теломер находятся в режиме своеобразного апоптотического ожидания и после потери контактов становятся объектом апоптотической фрагментации*. Этим самым подчёркивается главное отличие тканевой системы как эволюционно более сложной структуры от простого сообщества клеток. Клетки

дифференцированной ткани, находясь в составе тканевой ассоциации, защищены от митотических сигналов, которые в отсутствие теломер могут инициировать не деление, а апоптоз.

Без мистического подхода к апоптозу как преднамеренно запрограммированному суициду, в этом феномене несложно увидеть естественное стремление клетки к делению после потери контактов с матриксом. Однако отсутствие теломер превращает деление в межнуклеосомную фрагментацию: клетка делится на осколки лишённые полноценного набора хромосом. Таким образом, из-за неспособности к делению, ткани с возрастом лишь теряют клетки в результате апоптической фрагментации.

Известно, что межклеточные контакты осуществляются белками, синтезируемыми самой клеткой. Следовательно, нарушение контактов может произойти в результате прекращения синтеза соответствующего белка или в результате синтеза изменённого белка. Конечно, пока нельзя говорить о молекулярно-биохимических деталях остановки или нарушения синтеза белков, обеспечивающих нахождение клетки в тканевой ассоциации. Вместе с тем, если обратиться к известным нам свойствам белков, поддерживающих межклеточные контакты, мы увидим важные детали. Первая вытекает из функциональной роли данных белков: они выполняют не просто механическую функцию, а обеспечивают контакты. Иными словами, синтезируемые белки должны комплементарно совпадать.

Интересно отметить одну деталь: мембранные интегрин активно взаимодействуют с трипептидом аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (RGD) в белках внеклеточного матрикса, что является важным фактором «удержания» клетки в составе тканевой системы. Если заблокировать такие связи, например, с помощью пептидов, содержащих RGD последовательности, то можно воспроизвести экспериментально апоптоз *in vitro* (Фильченков, Стойка, 1999). Если обратить внимание на участие RGD-содержащих полипептидов в поддержании комплементарного связывания данных белков, то нетрудно заметить, что несовпадение даже одной аминокислоты в этом триplete может привести к радикальному изменению полипептида с последующей потерей контакта клетки с матриксом. Этот нюанс позволяет увидеть важнейшее звено: механизм спонтанного возникновения информационного сигнала, который регулярно запускает апоптоз.

Выше уже говорилось, что на протяжении многих десятилетий с момента раскрытия генетического кода безуспешно пытаются найти регулярно накапливающиеся ошибки в ДНК, которые могли бы служить своеобразным маятником биологических часов старения. Вместе с тем, такие ошибки есть, они хорошо известны. Это – точечные мутации, получившие за регулярную повторяемость название мутационного шума. Они являются небольшими отклонениями в геноме в ходе репарации ДНК. Такие точечные отклонения приводят к незначительным изменениям кодона в форме т.н. транзиций и трансверзий, то есть замен одного пуринового или пиримидинового основания на другое и между собой. Далее по известной молекулярно-биологической цепочке происходит изменение последовательности нуклеотидов вновь синтезируемых матричных РНК и соответствующие отклонения в аминокислотной последовательности синтезируемых ими белков.

Феномен мутационного шума известен ещё с 60-х годов прошлого века, когда стала понятна ключевая роль нуклеиновых кислот в наследовании и генетическом контроле синтеза белка. Точечные мутации зависят от точности выбора комплементарных азотистых оснований при ферментативной репарации ДНК. Неизбежность этих мутаций обусловлена физико-химической закономерностью протекания любых ферментативных процессов. В геноме заложена только степень устойчивости к определённым мутационным ошибкам. Она зависит от генетически детерминированной функциональной активности ДНК-полимеразы и от стереохимической доступности определенных участков генома для этого фермента, то есть от общей организации генома. Это ключевые факторы, определяющие информационную устойчивость генома, то есть его способность точно воспроизводить нуклеотидную последовательность в процессе репарации.

Здесь необходимо заметить, что старение уже давно рассматривают с позиции второго закона термодинамики как фундаментального принципа для всех флуктуирующих систем. Для замкнутых неравновесных систем характерно возрастание энтропии, а, следовательно, неизбежный распад самой системы. Согласно теореме Ильи Пригожина (I.Prigogine), для достижения равновесного состояния при фиксированных внешних параметрах необходим стационарный уровень энтропии. Прирост энтропии внутри системы должен компенсироваться отрицательной

энтропией. Если все реальные процессы в изолированных системах протекают с увеличением энтропии, то в открытых системах, каковыми являются клетки, постоянный уровень энтропии обеспечивается чередованием процессов распада и синтеза, то есть соблюдением баланса в обмене веществом и энергией с окружающей средой. Это термодинамическое условие в равной степени соблюдается – как в делящейся, так и в неделящейся клетке, так как клетка не перестаёт быть открытой системой.

Иными словами, термодинамического предопределения старения неделящейся, равно как и постоянно делящейся, клетки нет. Клетка, как открытая система, способна бесконечно долго поддерживать низкий уровень энтропии. Однако при сохранении высокомолекулярной организации генома в целом, в нём неизбежно возникают флуктуации в составе отдельных молекул, что ведёт к неустойчивости на транскрипционно-трансляционном уровне. Таким образом, предопределение срока жизни связано не с возрастанием энтропии (то есть необратимой деградацией высокомолекулярных структур), а информационной неустойчивостью, возникающей в ходе неэнтропических процессов, поддерживающих термодинамическое равновесие.

Смена индивидуальности, которую на уровне одноклеточных организмов мы видим в форме деления, случайного фенотипического изменения или гибели, присуща и дифференцированным тканям. В рамках дифференцированной тканевой системы невозможно только деление клетки из-за отсутствия теломера, о чём говорилось выше.

Вот почему именно тканевая ассоциация становится первым эволюционным приобретением, где информационная неустойчивость клеточного генома становится причиной неустойчивости всей системы. Ограничение существования отдельных тканей (а следовательно, органов и целого организма) связано не с возрастной деградацией клеточной ДНК, а с неизбежными информационными ошибками при её репарации.

Таким образом, старение – это эволюционное приобретение, которое отсутствует на уровне прокариотов и одноклеточных организмов. Старение появилось не в результате того, что клетка, став частью тканей, органов и организма, приобрела свойство стареть и погибать от старения. Клетка повторяет свои фундаментальные свойства на любом эволюционном уровне, а

старение, как эволюционное приобретение, обусловлено не особой эволюцией клетки, геном которой якобы приобрёл способность стареть, а усложнением организации. На уровне ткани мутационная неустойчивость генома становится фактором неустойчивости тканевой системы.

Мутационные ошибки могут быть летальными и для одноклеточного организма. Однако смерть клетки малозначима в судьбе сообщества одноклеточных организмов. В дифференцированных тканях целостного организма потеря клеток невосполнима и является фактором постепенного ослабления интегральной функции ткани, что мы и воспринимаем на уровне целого организма как его старение.

Старение – результат стохастической потери клеток в тканях из-за случайных точечных (шумовых) мутаций, приводящих к изменению аминокислотной последовательности в белках, обеспечивающих межклеточные контакты (то есть существование тканевой системы). Потеря контактов нарушает мембрано-опосредованный метаболизм клетки и инициирует её апоптотическую элиминацию из тканевой системы, а уменьшение количества клеток становится причиной постепенного развития функциональной неполноценности ткани.

Таким образом, мы изложили концепцию старения, где последнее предстаёт не как деградация генома, а как постепенная потеря численности клеток в тканях. Всё изложенное выше основывается на доказанных фактах и вполне соответствует требованиям научной гипотезы. Данный взгляд не менее правомочен, чем не имеющий доказательств тезис о старении клетки. Однако доказательства требуют и предлагаемая концепция.

Мы возвращаемся к давно известному научному принципу: любое теоретическое решение нуждается в феноменологическом подтверждении, хотя далеко не каждый феномен может привести к открытию. Напротив, иногда феномен может быть отвергнут или не замечен из-за несоответствия существующим взглядам. Так, в частности, произошло с открытием Менделя, когда за впечатляющей статистикой в течение тридцати с лишним лет видели лишь «математический курьёз природы» (выражение Дарвина), а не фундаментальный принцип наследования.

Медицина и биология не имеют математической базы для создания научных теорий, которые в точных науках могут

опережать опытно-экспериментальные возможности. Прийти же к теоретическому решению, как показано выше, мешает стереотип мышления.

Всё это переплелось при создании данной концепции старения: она не была создана теоретически в ходе логически последовательного обобщения уже известных фактов. Механизм старения был осознан одновременно с идеей о нестарении клетки, которая возникла на фоне изучения возрастных изменений роговичного эндотелия. По сути, концепция выросла из феномена. Необычность ситуации, однако, в том, что данный феномен нельзя назвать абсолютно новым. Он не был открыт нами, хотя мы впервые увидели через него механизм старения. Так или иначе, но именно обращение к роговичному эндотелию как простейшей тканевой системе позволяет феноменологически проникнуть в суть механизма старения.

Возрастные изменения роговичного эндотелия как иллюстрация стохастического механизма старения ткани

Данная концепция старения, опирающаяся на приведённые выше медико-биологические данные, возникла после того, когда возрастная потеря плотности эндотелиальных клеток роговицы была увидена как особый феномен, отражающий принцип старения. Вразрез со стратегией геронтологической науки, уже много десятилетий нацеленной на поиск старения клеточного генома как явления, безотносительного конкретному организму, ткани или органу, мы обращаемся к конкретной тканевой системе, предлагая на частном примере увидеть общий принцип. До сих пор этот принцип не был замечен в силу многомерности большинства тканевых систем, и только упростив задачу до уровня относительно небольшой, вполне просчитываемой клеточной ассоциации, можно увидеть скрытый от нас феномен. В многомерных тканевых образованиях, видя уменьшение числа клеток, исследователи не могли выяснить количественную сторону явления, которое вполне доступно в клеточном монослое.

Разностороннее изучение роговичного эндотелия в 70-80-х годах прошлого века было обусловлено практическими потребностями офтальмологии, в особенности кератотрансплантологии. Именно в этот период были накоплены убедительные факты,

свидетельствующие о ключевой роли этой тканевой системы в обеспечении прозрачности роговицы. В течение последующих десятилетий была получена практически исчерпывающая статистика, в том числе, отражающая возрастные изменения эндотелия роговицы, чему способствовало усовершенствование методов и приборов для зеркальной микроскопии в офтальмологии.

В связи со сказанным выше, наше обращение к роговичному эндотелию не ставило каких-то особых научных целей. Это была часть тривиальной работы по оценке качества донорской роговицы на основе апробированного метода подсчета плотности клеток эндотелиального монослоя. Однако именно это исследование позволило обратить внимание на факт, которому не придавали значения: равномерность и регулярность потери клеток роговичным эндотелием на протяжении жизни. В частности, при анализе возрастной пригодности донорской роговицы это обстоятельство стало решающим. Мы обращаем внимание на то, что обнаружение механизма старения стало совершенно случайным событием при рассмотрении конкретного практического вопроса о пригодности роговицы в зависимости от возраста донора.

Важно отметить, что в офтальмотрансплантологии уже несколько десятилетий качество донорской роговицы оценивают по количеству эндотелиальных клеток, определяемому как плотность клеток на кв.мм. В частности, роговица молодого донора будет выбракована, если плотность эндотелиальных клеток приблизится к 1500 клеткам на кв.мм. С другой стороны, роговица 60-70 летнего донора может стать отличным трансплантационным материалом, если плотность эндотелиальных клеток превышает пороговый уровень.

Конечно, с возрастом возможности выбора качественного трансплантационного материала для кератопластики снижаются в связи с перенесенными заболеваниями, оперативными вмешательствами, травмами и др. Однако, при отсутствии этих «следов времени» главным критерием становится не возраст донора, а численность (плотность) эндотелиальных клеток. Именно этот показатель определяет успех операции, то есть функциональные возможности донорской роговицы.

Таким образом, анализ возрастных изменений роговичного монослоя как целостной тканевой системы указывает на то, что качество (то есть *функционально-адаптационные возможности*)

роговицы зависит от численности эндотелиальных клеток. Это положение хорошо известно в офтальмотрансплантологии, и при практическом подходе к проблеме здесь нет понятия возраста клеток, из которых состоит роговичный монослой. Если плотность клеток роговичного эндотелия ниже уровня, то роговица не будет отвечать функциональным требованиям, независимо от возраста клеток.

При рассмотрении проблемы биологического возраста роговицы обращает внимание то, что для кератотрансплантологов возраст донора (а, следовательно, и возраст роговичных клеток), отодвинут на второй план при отборе донорского материала. Надо отметить, что подобное происходит только в офтальмологии. Везде в трансплантологии главный акцент делается на возрасте донора, так как осуществить перед операцией морфо-функциональную оценку таких органов как почка, сердце или печень не представляется возможным. Именно благодаря уникальности офтальмотрансплантологической практики представилась возможность обратить внимание на необычный феномен.

Как уже отмечалось, вопрос о качестве самих клеток эндотелиального монослоя у доноров различного возраста в практической плоскости не поднимался. Для кератотрансплантации важно учитывать только клеточную плотность. Если эта плотность превышает минимальный предел, то роговица пригодна к трансплантации независимо от возраста. Поэтому вопрос о том, какой вклад может вносить возраст самих клеток в качество донорской роговицы, имел чисто теоретический характер. Однако размышление именно над этим вопросом позволило прийти к неожиданной идее: *не существует иного критерия возраста кроме численности клеток в тканевой системе, а механизм старения связан с потерей клеток*. Снижение с возрастом функциональных и адаптационных возможностей тканей, органов и организма в целом зависит только от уменьшения клеток. Так, все сомнения в отношении старения клеток в дифференцированных тканях, о которых уже говорилось, трансформировались при изучении донорской роговицы в концепцию, связанную с отказом от геронтологической догмы (Артёмов, 2007).

Одним из главных обстоятельств здесь явилось изучение паттернов, отражающих плотность эндотелиальных клеток роговицы у лиц различного возраста, которые были в нашем

распоряжении. Благодаря им была подмечена регулярность исчезновения клеток, которая затем была объяснена на основе известных представлений об апоптозе и точечных мутациях.

Здесь надо ещё раз подчеркнуть, что решение было найдено не на основе запланированного статистического анализа полученных данных. С одной стороны, такой анализ не входил в нашу задачу. С другой, – само количество изученных паттернов было слишком мало, чтобы подвергать их статистической обработке, тем более, учитывая отмеченное выше обстоятельство о многочисленных проводившихся до нас исследованиях.

Конечно, статистическая обработка накапливаемых наблюдений объективно необходима, если проблема ещё не изучена. Однако, при всей своей математической точности, статистика не может заменить анализа медико-биологической сути проблемы. Более того, даже впечатляющий статистический расклад может игнорироваться медико-биологической общественностью в течение многих десятилетий, как было подчеркнуто выше на известном примере Грегора Менделя.

Как уже отмечалось, в нашем случае изучение донорской роговицы было подчинено практическим целям, оно не претендовало на научную оригинальность и не предусматривало статистической обработки. Обращение к результатам этих наблюдений возникло, как подчеркивалось выше, спонтанно. При этом, в разрозненных и статистически необработанных данных, отражающих плотность эндотелиальных клеток роговицы у лиц различного возраста, было увидено математическое противоречие, о котором надо сказать особо.

Ещё в 19 веке Гомперцом была предложена математическая модель старения, которая до сих пор считается наиболее удачной. Она очень точно отражает связь между старением и смертностью. Окончательный вид формулы, дополненной позднее Мейкемом, выглядит так:

$$M(t) = A + R \exp(at),$$

где: M – смертность, t – время жизни, A – постоянная, предложенная Мейкемом, R – начальный уровень смертности, a – коэффициент нарастания смертности во времени.

Модель, графической иллюстрацией которой является экспонента, показывает – как проявляется во времени патогенный потенциал. Если потеря клеток в тканях связана с их старением, то количество убывающих клеток должно увеличиваться с возрастом. Именно здесь и было обнаружено указанное противоречие. Наши данные свидетельствовали о постепенном и равномерном уменьшении численности эндотелиальных клеток с возрастом, что находится в явном диссонансе с экспоненциальной функцией.

Собственные наблюдения были малочисленны для статистического подтверждения столь ответственного вывода. Однако, убедиться в их достоверности позволили исследования других авторов. Как уже отмечалось, благодаря эндотелиальной микроскопии, к началу этого века роговичный эндотелий был изучен досконально. Поэтому среди множества сведений о роговичном эндотелии, накопленных за последнюю четверть века, оказалось немало данных об изменении возрастной численности эндотелиальных клеток. Здесь мы нашли подтверждение тому, что увиденная на собственном небольшом материале тенденция, является неслучайной. Авторы всех исследований единогласны в том, что роговичный эндотелий теряется в течение жизни равномерно (Mishima, 1982; Murphy et al, 1984; Probst et al., 1987). Рассчитан даже темп указанной потери – 0,6% в год. Эта цифра уже стала хрестоматийным фактом, на который ссылаются в учебных руководствах (Вит, 2003).

Итак, мы подошли к интересному обстоятельству. Как говорилось выше, любая теоретическая концепция (гипотеза) нуждается в фактическом подтверждении. Но ведь самое главное феноменологическое свидетельство механизма старения уже более двух десятилетий назад отмечено в литературе. Более того, мы также не обратили на это внимания, до собственных исследований роговичного эндотелия.

Может показаться странным, что не статистически достоверный материал, а малочисленные собственные наблюдения, позволили обнаружить принцип старения. Однако дело здесь не в накоплении «достаточного» числа наблюдений и их статистической обработке. Чтобы посмотреть на статистические данные о возрастной потере роговичного эндотелия не просто как на бухгалтерский отчет, а как на отражение фундаментального механизма старения, необходимо отказаться от геронтологической

догмы. Именно поэтому данная концепция была изложена без упоминания основного её подтверждения. Как можно увидеть, для создания концепции нужно было не столько феноменологическое подтверждение, сколько его предвидение на основе уже известных фактов.

Действительно, статистика возрастных изменений эндотелия роговицы математически однозначно свидетельствует о случайном (стохастическом) характере исчезновения клеток. Гибель стареющих клеток, если подобное, действительно, имело бы место, должна была бы нарастать с возрастом. Однако это опровергается на примере роговичного эндотелия. Именно это обстоятельство, независимо от согласия с конкретными деталями изложенной здесь концепции старения, требует «отречения» от геронтологического символа веры и признания того, что клетки не стареют (по крайней мере – в роговице). Вместе с тем, надо ещё раз подчеркнуть, что данная концепция возникла не как обоснование накопленного статистического материала, а через осознание универсальной медико-биологической роли апоптоза на фоне анализа возрастных изменений роговицы. Статистика явилась лишь подтверждением идеи о нестарении клеток в виде феномена их возраст-независимой элиминации в роговице. И то обстоятельство, что доказательная статистика была получена многими исследователями задолго до автора, служит лишним подтверждением её объективности.

Заключение

Возрастная потеря клеток в различных тканях и органах давно известна в патологии и не вызывает удивления. Однако еще предстоит осознать, что возрастное снижение плотности эндотелиальных клеток роговицы не является частным феноменом. Пока, кроме эндотелия роговицы, возраст-независимый характер элиминации клеток можно увидеть лишь на отдельных примерах.

Так, Muller-Pedersen (1997) показала гистоморфометрически (с помощью подсчёта ядер), что потеря кератоцитов (клетки собственного вещества роговицы) на всем протяжении жизни человека (от 10 до 90 лет) не изменяется и составляет 0,3 % в год.

Ещё одно подтверждение получено на примере ганглиозных клеток сетчатки, которые интенсивно изучаются гистоморфометрически в связи с исследованиями патогенеза глаукомы.

В частности, показана равномерность потери: 0,014 % ганглиозных клеток каждый день (Алексеев и др., 2003).

Данные факты получены вне связи с геронтологической тематикой или стремления обосновать стохастический механизм старения. Они являются подтверждением возраст-независимого характера потери клеток в тканях, что вселяет надежду на преодоление догматических представлений о старении клетки как причине старения организма.

Литература

1. Алексеев В.Н., Мартынова Е.Б. и др., 2003. Клинико-экспериментальное изучение глаукомной нейроретинопатии // Клиническая офтальмология Т.4.№.2. С.73-75.
2. Артёмов А.В., 2007. Донорская роговица в аспекте современной патологии. Одесса: Интерпринт. 186 с.
3. Вит В.В., 2003. Строение зрительной системы человека. Одесса: Астропринт. 664 с.
4. Давыдовский И.В., 1966. Геронтология. М.: Медицина. 300 с.
5. Макрушин А.В., 2007. Как и почему возникли механизмы старения и онкогенеза: гипотеза // ЖОБ. Т.68. №1. С.19-24
6. Фильченков А.А., Стойка Р.С., 1999. Апоптоз и рак. Киев: Морион. 184 с.
7. Фролькис В.В., 1988. Старение и увеличение продолжительности жизни. Л.: Наука. 239 с.
8. Gatti S., 2002. The role of sponges in high-Antarctic carbon and silicon cycling: a modelling approach // Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research: Bremerhaven.
9. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R., 1972. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in the tissue kinetics // Brit. J. Cancer V.26. P.239-57.
10. Mishima S., 1982. Clinical investigation of the corneal endothelium // Amer. J. Ophthalmol. V.93. P.1-29.
11. Muller-Pedersen T., 1997. A comparative study of human corneal keratocyte and endothelial cell density during ageing // Cornea V.16. P.333-338.
12. Murphy C., Alvarado J., Juster R., Maglio M., 1984. Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium: a quantitative histologic study // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. V.25. P.312-322

13. Probst L.E., Halfaker J.S., Holland E.J., 1997. Quality of corneal donor tissue in the greater-than-75-year age group // Cornea V.16. P. 507-511.

Resume

TISSUES GET OLD WITHOUT AGEING OF CELLS: THE UNIVERSAL MECHANISM OF AGEING

Artemov A.V.

The modern gerontology explains ageing of the multicellular organisms by ageing of cells as a result of accumulation of errors in genome. However, the mechanism of accumulation of damages is not found and theoretically is not predicted till now. At the same time, ageing, that is imperceptible at the level of separate cells and its genome, is shown at the level of tissues as a reduction of number of cells. This morphological fact is known for a long time. It is explained by cell ageing and subsequent death of cells.

Morphological studying of the age changes of corneal endothelium has allowed to pay attention for the first time to the major circumstance: loss of cells in tissue is not increasing during life, i.e. it cannot be a consequence of cell ageing. This age-independent process refutes the existent representation. The functional weakness of tissues with the years is a result of casual death of cells.

A regular stochastic destruction of cells can be caused by random errors at the level of transcription and translation. So, it is known that genome is a subject to the mutational noise. The point mutations arise at each act of reparation. They can repeat, but they are not collected and cannot lead to genome ageing. However, mutational noise contains risk of occurrence of lethal mutations. For example, repeated error in synthesis of proteins, providing contact of cell with matrix, initiates membrane-mediated apoptosis and destruction of cells in the tissue systems. Reduction of cells leads to loss of functionality of tissues. It is accompanied by functional easing at the system level. So, through casual death of cells there is a degradation of tissues as a result of reduction of the cell number.

Thus, ageing is a stochastic destruction of cells in tissues as a result of information error in a protein synthesis. Organism ageing is an

ageing of tissues that happens without ageing of cells. It is result of information instability of genome and not a consequence of its age degradation.

Artemov A.V., Ph.D

Chairman of the Department of Eye Pathology and Preservation of Donor Tissues.

The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy

French boulevard, 49/51.

Odessa, Ukraine, 65061

9 ноября 2012 г. Одесса

Артёмов Александр Валентинович, – кандидат медицинских наук, профессор, врач-онколог, Институт глазных болезней и тканевой терапии им.В.П.Филатова (Одесса, Украина), кафедра онкологии, действительный член Русского Физического Общества

eI.mail: art_onkol@ukr.net

