

Мудрец из Беркли открыл лекарство от старости?

Кандидат биологических наук
В.А.Чистяков

Во все времена находились люди, пытавшиеся бороться с недугом, который угрожает каждому из нас, — со старостью. В этой статье я хочу рассказать об открытии, ставшем итогом огромного прогресса в понимании причин и механизмов старения, достигнутого в последние десятилетия XX века. Это открытие сделал интернациональный коллектив ученых под руководством известного американского биохимика Брюса Эймса.

Согласно современным представлениям существует два ключевых механизма старения. Один из них связан с инактивацией генов, которую вызывает прогрессирующее с возрастом укорочение концевых (теломерных) участков хромосом. Этот механизм еще в 70-е годы был предсказан нашим соотечественником Александром Оловниковым. Позже, в конце XX века, его существование было подтверждено. Другой механизм — накопление свободнорадикальных повреждений клеточных структур, в первую очередь митохондрий. Его существование также не вызывает сомнений. Главный практический вопрос здесь, каков вклад каждого из этих механизмов в развитие связанных со старением патологий?

Авторы открытия исходили из того, что главная причина старения — это окислительная деструкция митохондрий. Теперь, когда Эймс и его коллеги получили то, что можно назвать первым эффективным лекарством от старости, аргументы сторонников ключевой роли «свободнорадикального» механизма имеют очень веское подтверждение.

Что такое ALCAR и LA

Мало узнать причину проблемы, нужно найти подходящий метод для ее устранения. Гильотина, как известно, хорошо устраняет головную боль, но это лекарство имеет нежелательные побочные эффекты. На сегодня химикам известно множество антиоксидантов — веществ, способных устранять свободные радикалы кислорода *in vitro* (в пробирке). Однако эти вещества зачастую не действуют или становятся ядовитыми *in vivo* — в живом организме.

Эймс и его ученики с самого начала отказались от применения искусственных антиоксидантов. При поиске компонентов лекарства от старости они опирались на давно известный факт — замедление старения при ограничении калорийности питания (см. статью «Рецепты долголетия» в «Химии и жизни», 1999, № 8). Во время полной голодовки многие биохимические показатели возвращаются в «молодое» состояние. Если бы люди могли голодать по шесть месяцев в году, они оставались бы молодыми гораздо дольше. Однако голодовка — состояние экстремальное, и при злоупотреблении этим средством можно умереть от истощения и авитаминоза. Тем не менее если при голодании старение отступает (а как показали исследования, при этом снижается и уровень свободнорадикальных реакций), то это может происходить только за счет веществ, которые есть в самой клетке. Поэтому антиоксиданты решили искать среди тех соединений, что

участвуют в реакциях, протекающих в митохондриях — энергетических станциях клетки, которые больше всего подвержены окислительному стрессу.

Одно из главных проявлений возрастной деградации митохондрий — ухудшение их способности вырабатывать АТФ, внутриклеточное горючее, без которого останавливается все и вся. Поэтому в качестве первого компонента было выбрано вещество, хорошо стимулирующее выработку АТФ и у молодых, и у старых животных. Оно называется ацетил-L-карнитин, сокращенно ALCAR. Предшественники Эймса показали, что ALCAR «исправляет» у старых животных обмен жирных кислот. Эти кислоты — необходимый компонент липидов, из которых построены мембраны клеток, следовательно, они необходимы для клеточного деления и обновления тканей. Кроме того, ALCAR восстанавливает уровень важных для нормального обмена веществ — карнитина и кардиолипина, благотворно влияет на работу мозга у людей, страдающих болезнью Альцгеймера, и т. д. Однако при всем этом множестве плюсов у ацетил-L-карнитина есть один важный минус: введение его животным сопровождается повышением уровня перекисных процессов. Причина, очевидно, в том, что ALCAR запускает работу клеточных энергетических систем в форсированном режиме.

Для того чтобы предотвратить разрушительные последствия этого «аврала», был найден второй компонент — липоевая кислота (по английски *lipoic acid*,

сокращенно LA). Это вещество — также естественный метаболит митохондрий. Липоевая кислота служит коферментом (помощником) одного из важных митохондриальных ферментов, дегидрогеназы альфа-кетонных кислот. Не вдаваясь в подробности, скажем, что он входит в число ключевых ферментов, обеспечивающих усвоение углеводов и жиров. В клетке липоевая кислота переходит в восстановленную форму, которая не только работает как сильный естественный антиоксидант, но и повышает внутриклеточное содержание других антиоксидантов. Иначе говоря, липоевая кислота проявляет свои антиоксидантные свойства, только попав внутрь клетки, не растрачивая их по дороге. Благодаря этому, как было известно ранее, она может в определенной степени компенсировать негативные проявления старения, однако ее активность сама по себе невелика.

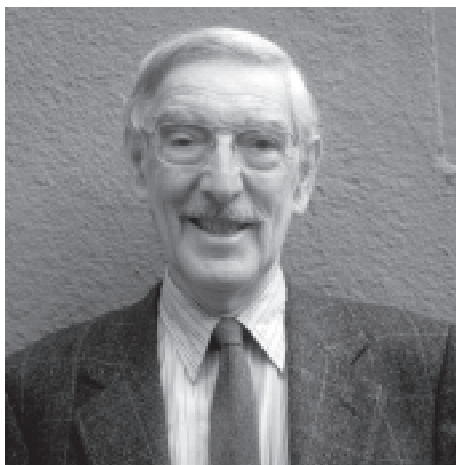
Эймс и коллеги показали, что ALCAR и LA вместе могут действовать синергически, то есть их общий положительный эффект может быть значительно выше, чем сумма эффектов по отдельности.

Возвращение сил

Объектом исследования стали белые лабораторные крысы линии Fisher 344. («Линейные» крысы отличаются от тех, которые продаются в зоомагазинах, большей генетической однородностью.) Продолжительность жизни этих славных зверьков примерно 30 месяцев. В опытах использовали молодых (возрастом 3–5 месяцев) и старых (20–28-месячных) самцов.

После необходимого периода адаптации молодых и старых крыс разделили на контрольную и три опытные группы. Контроль в течение месяца питался стандартным крысиным кормом, состав которого во всех серьезных лабораториях унифицирован, и вдоволь пил обычную воду. Крысам из опытных групп в воду добавляли ALCAR (в концентрации 1,5%, или 15 г на литр), липоевую кислоту (в концентрации 0,5% — 5 г на литр) или их смесь.

Затем изучали целый ряд параметров, в первую очередь характеристики поведения старых и молодых животных. Крыс рассаживали по отдельным клеткам и снимали на видеокамеру, подключенную



Брюс Эймс (р. 1928), с 1967 года живет и работает в Беркли (Калифорния). Автор нескольких фундаментальных открытий в биохимии окислительного стресса. Разработчик знаменитого теста Эймса (1973), который до сих пор считается самым надежным методом выявления потенциальных канцерогенов. Входит в двадцатку наиболее цитируемых ученых планеты



ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

к специальной компьютерной системе, которая рассчитывала, какое расстояние преодолевает животное в результате всех своих перемещений за время опыта, сколько времени оно движется, сколько отдыхает. Съемки повторяли несколько раз до приема изучаемых веществ и после. В этом опыте каждая крыса служила своим собственным контролем.

В контроле молодые крысы двигались значительно больше, а отдыхали меньше, чем старые, поэтому пройденная ими дистанция была почти на 70% длиннее. Прием смеси ацетил-L-карнитина и липоевой кислоты (далее я буду иногда называть ее смесью Эймса) улучшил показатели всех животных. Но если подвижность молодых возросла на 31%, то старые прибавили 112%!

За счет чего произошли такие изменения? Об этом рассказали результаты биохимических тестов. Как известно, для любых передвижений живым существам нужна энергия АТФ, которая вырабатывается митохондриями. Митохондриальный генератор АТФ — это электрохимическая машина: сжигание пищи создает градиент концентрации протонов (электрический потенциал) между сторонами митохондриальной мембраны. Совсем правильный термин — мембранный митохондриальный потенциал ($\Delta\Psi$). Между поверхностями мембраны возникает поток протонов, энергия которого дает возможность специальному ферменту синтезировать молекулы АТФ. Чем больше разность потенциалов, тем больше молекул АТФ вырабатывает митохондрия в единицу времени. (О митохондриальном преобразовании энергии и его первооткрывателе Питере Митчелле «Химия и жизнь» писала не раз: см., например, статью В.П.Скулачева «Отшельник из Глинн-Хауза», 1992, № 11.)

У старых животных величина $\Delta\Psi$ в два с лишним раза меньше, чем у молодых, поэтому им, бедным, так тяжело двигаться. Добавка Эймсовой смеси в корм улучшает энергетику животных — $\Delta\Psi$ при этом лишь немного не дотягивает до молодого уровня. Поэтому они и бегают почти как молодые.

Одно из главных биохимических проявлений старения — усиление перекисных процессов. Их интенсивность измеряют по разным параметрам. Один из самых популярных — это содержание продукта окислительной дегградации липидов, малонового диальдегида, или сокращенно МДА. В свое время Эймс и его ученики провели специальную серию исследований, в которых был разработан самый точный на сегодня метод анализа этого вещества. Разработанную методику они применили и в данном случае.

Как оказалось, смесь ацетил-L-карнитина и липоевой кислоты понижает уровень МДА, а значит, и интенсивность перекисных процессов вообще у старых животных. Наблюдается почти двукратное уменьшение, однако полного возврата к «молодому» уровню достичь не удалось. Возможно, одной из причин было короткое время исследования. Ведь старческие изменения накапливались в течение полутора лет, а лекарство от старости крысы получали всего месяц.

Активация перекисных процессов в пожилом возрасте усугубляется истощением антиоксидантов. Самый важный и показательный в этом плане антиоксидант — хорошо известная всем аскорбиновая кислота, или витамин С. Поэтому параллельно с характеристиками мощности клеточной энергетики ученые выяснили, что употребление смеси Эймса не только не снижает содержание этого витамина у старых животных, но и возвращает его содержание к уровню, характерному для молодых.

Подведя предварительные итоги, можно сказать, что предложенная Эймсом смесь позволила в значительной степени вернуть старым крысам присущую молодости скорость движений, а произошло это за счет исправления накопившихся дефектов их энергетического обмена веществ.

Здравый ум и твердая память

Конечно, скованность движений — неприятная черта пожилого возраста, но гораздо страшнее бывает возрастная потеря памяти,сообразительности и т.д. — то, что специалисты называют ослаблением когнитивных функций, а обычные люди — «выживанием из ума». Но как

узнать, выжила крыса из ума или нет? И если да, то насколько? Ее ведь не спросишь: когда день рождения любимого внучатого племянника, или какой город южнее, Москва или Дели.

Тем не менее методы, позволяющие оценить пространственную (spatial) и временную (temporal) память животных, существуют, и «Химия и жизнь» не раз о них писала. Эймс и его коллеги использовали классическую методику оценки пространственной памяти, основанную на том, что крысы отлично умеют плавать, но не любят этого делать. Полигоном для эксперимента служил небольшой бассейн, где крысам везде «с головкой», кроме маленькой платформы, которая скрыта под водой. (А чтобы крысы не могли ее увидеть, вода была замутнена специальными добавками.) В течение 4 дней бедных мучениц науки по 4 раза бросали в бассейн, где они находили платформу и забирались на нее. С каждым днем крысы делали это все быстрее. Время достижения площадки рассчитывала компьютерная система, подключенная к видеокамере. На пятый день животных опять бросали в бассейн, но площадку оттуда предварительно убирали. Бедные крысы плыли к тому месту, где была площадка, и пытались ее найти. Нужно ли говорить, что безжалостная компьютерная система хладнокровно регистрировала время, которое они проводили там, где раньше был «островок»?

Как доказали физиологи, время, проводимое на месте исчезнувшей платформы, и есть самая точная оценка пространственной памяти у крыс. Чем это время больше, тем лучше пространственная память. Тут надо помнить, что крысы, при всем нашем к ним уважении и признательности, не люди. Они не сообразят, что площадку могли убрать, и будут пытаться отыскать ее, пока их не вытащат из бассейна. На шестой день животных опять бросали в бассейн. Площадку перед этим не просто возвращали на место, но устанавливали так, чтобы ее было видно. В этот день оценивали уже не память, а силу и зрение животных.

Как вы уже догадались, по всем исследованным показателям старые животные уступали молодым. И скрытую (погруженную в воду), и открытую платформу они искали примерно в 4–5 раз дол-

ше. Время, которое ветераны науки проводили на месте исчезнувшей платформы, было также в пять раз меньше, что говорит о соответствующем ослаблении памяти. Ацетил-L-карнитин и липоевая кислота по отдельности немного улучшали показатели, но самый лучший эффект давала, конечно, смесь. Результат по нахождению платформ она помогла улучшить более чем в два раза, а вот показатель, характеризующий собственно пространственную память, был неотличим от «молодого» уровня.

Для изучения временной памяти (способности запоминать последовательность событий) крыс, которых держали перед этим на четверти нормального крысиного пайка, рассаживали в специальные домики, где были лампочка, динамик и рычаг. Если после подачи светового или звукового сигнала крыса успевала нажать на рычаг в течение 40 секунд, она получала кусочек корма. По скорости, с которой животное реагирует на сигнал, можно оценить его временную память. Измерения вели через 10 и 20 дней тренировок.

Фактически в этом тесте оценивается скорость условных рефлексов. Как многие помнят еще из школьной программы, условный рефлекс — это автоматическая, выработанная в ходе тренировки реакция на какой-то раздражитель. Например, противник открылся справа — свинг левой. Поэтому про боксера-чемпиона говорят: у него хорошие рефлексы. Ясно, что у старых крыс с рефлексами дело обстоит хуже, чем у молодых. В проведенных авторами опыта они реагировали на сигналы примерно в пять раз медленнее. Нужно заметить, что в этом тесте нельзя выделить четкую характеристику именно памяти, скорее можно говорить о скорости реакции. Поэтому, наверное, результаты не были такими показательными, как в тесте с бассейном и платформой. Тем не менее и в этом случае смесь Эймса обеспечила старым крысам заметное, примерно двукратное улучшение показателей.

Здесь возникает естественный для современной биологии вопрос: какие изменения в мозгу старых крыс обеспечили обнаруженное в опытах радикальное улучшение памяти? Вопрос этот далеко не абстрактный, а очень даже практический. Ведь зная механизм явления, мы можем попытаться ответить на самый важный вопрос: воспроизведутся ли результаты, полученные на крысах, у человека?

При чем тут ДНК?

Поэтому, прежде чем двигаться дальше, попробуем очень коротко напомнить, что современная наука знает о механизмах памяти. Конечно, полностью эти механизмы не расшифрованы, слишком сложная штука память. Однако в самом об-

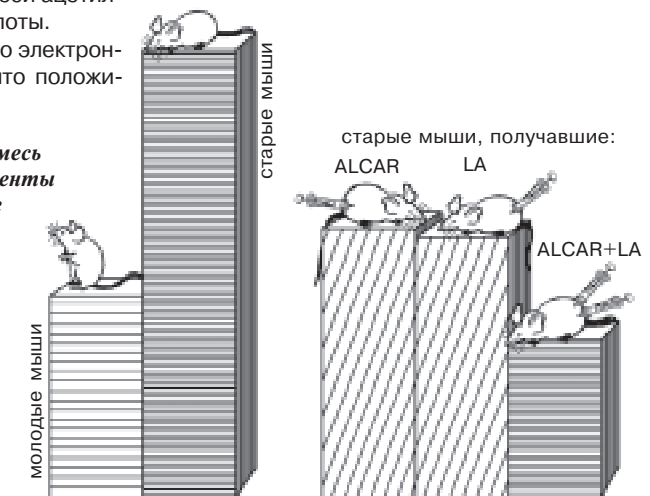
щем, грубом приближении можно сказать следующее. Переработкой информации, поступающей от органов чувств, занимаются нервные клетки — нейроны. Они имеют отростки, которыми соприкасаются друг с другом, образуя сети. (Места контактов называются синапсами.) Мозг — это, в сущности, большой конгломерат нейронных сетей со вспомогательными клетками, которые обеспечивают питание, мелкий ремонт и т. д.

Информация от органов чувств поступает в виде особых электрохимических импульсов. На передаче и воспроизведении таких импульсов основана кратковременная память. Понятно, что электрохимические процессы не очень подходят для хранения информации. Чтобы мозг «законсервировал» нужную информацию, должны произойти изменения в синапсах, а для этого, в свою очередь, необходим синтез белка. Накопление с возрастом окисленных азотистых оснований в ДНК и РНК приводит к тому, что мозг начинает работать со скрипом. У людей свой вклад в старческое слабоумие вносят еще и другие процессы, например закупорка сосудов холестериновыми бляшками. Однако окислительное повреждение ДНК — это общий для всех животных механизм, который работает на клеточном уровне.

Вот почему целью следующей серии биохимических опытов Эймса и его коллег стало изучение состояния ДНК и РНК у подопытных крыс. Эксперименты показали, что ДНК клеток мозга старых животных значительно перегружена окисленными азотистыми основаниями. В коре больших полушарий, которая, как известно, ответственна за высшие ментальные проявления, их содержание повысилось более чем в два раза. Такая же примерно картина была и в других участках. И так же как и в случае других негативных биохимических показателей, применение исследованных веществ позволило этот уровень снизить. Причем стабильного возврата к степени окислительного повреждения ДНК, характерного для молодого возраста, удалось достичь только при использовании смеси ацетил-L-карнитина и липоевой кислоты.

Проведенная дополнительно электронная микроскопия показала, что положи-

Этот схематический рисунок показывает, как действует смесь Эймса и ее отдельные компоненты на относительное содержание окисленного гуанина в нуклеиновых кислотах гиппокампа (одного из отделов мозга) крыс. Видно, что они резко снижают вредоносное окисление. (Художница для наглядности нарисовала ипсичи, но вообще-то лекарство от старости можно просто пить.)



тельные изменения в структуре молекул проявляются и в исправлении структуры нервных клеток. Уменьшается число дефектов митохондрий, других характерных внутриклеточных уродств, а также число гранул липофусцина, балластного вещества, которое с возрастом накапливается в клетках.

За счет чего же может уменьшаться количество окисленных молекул нуклеиновых кислот? Можно подумать, что дело здесь в антиоксидантах, но это будет верно лишь отчасти. Антиоксиданты могут предотвратить накопление окисленных оснований в РНК, которая существует недолго, обычно от минут до часов: затем, когда она выполнит свою функцию, разбирается специальными ферментами «на запчасти». После антиоксидантной интервенции новые РНК будут содержать меньшее количество окисленных оснований. С ДНК, которая живет достаточно долго, так не получится. Однако в клетке существуют специальные службы, называемые системами репарации (от английского gerai — исправлять, ремонтировать). Одна из этих систем как раз и ремонтирует ДНК, постоянно заменяя окисленные основания нормальными. Для того чтобы системы репарации работали хорошо, нужно многое, но в первую очередь — достаточное количество энергии и качественно работающие ферменты.

Дефицит энергии у старых животных связан с худшей работой ферментов. И наоборот, улучшение энергетики старого организма, которое вытягивает все остальные функции, должно быть основано на активизации работы ферментов.

Стало быть, для того, чтобы глубже разобраться, как работает лекарство от старости, нужно было выяснить, каким образом оно улучшает работу универсальных молекулярных машин — ферментов.

Старение на уровне белков

Есть несколько причин плохой работы ферментов в клетках старого организма. Во-первых, это мутации в ДНК, в резуль-

тате которых меняется аминокислотная последовательность соответствующих белков и получают новые, дефектные молекулы. Примерно то же самое происходит из-за ошибок в синтезе РНК. Кроме того, свободные радикалы кислорода окисляют участки молекулы фермента таким образом, что она изменяет форму и не может выполнять свою функцию. Продукты перекисного окисления липидов могут присоединяться к ферментам, что также не идет им на пользу. Наиболее вредное из этих веществ — малоновый диальдегид, МДА (тот самый, который используют в качестве «маркера старения»). Все это было известно уже в 80-х годах XX века. Новизна подхода Эймса и его учеников заключалась в том, что они, проанализировав как свои, так и чужие данные, попытались выяснить: а в чем же конкретно проявляется возрастная порча ферментов?

Здесь нам нужно вспомнить о помощниках ферментов — кофакторах. Без этих сравнительно маленьких небелковых молекул большинство ферментов работать не способны. Кофакторы не пришиты к ферментам крепкими химическими связями, которыми соединены аминокислоты в белке — их присоединение обеспечено слабыми электростатическими взаимодействиями. Поэтому при появлении в белковых молекулах самых разных дефектов в первую очередь ослабляется их связь с кофакторами. От этого ухудшается качество работы фермента, и в первую очередь падает скорость ферментативной реакции.

Проанализировав множество опубликованных к 2002 году данных, Эймс и его коллеги подсчитали, что примерно треть всех мутаций, возникающих в генах ферментов, ведет к ослаблению связывания с кофактором, а проведенные ими ранее эксперименты показали, что окислительное повреждение приводит к такому же эффекту. Ученые предположили, что, увеличивая концентрацию кофактора, можно компенсировать ослабление его связи с белком.

Это предположение удалось подтвердить практически, что, собственно, и стало блестящим завершением первой серии их работ, посвященных созданию лекарства от старости. Напомню, что ацетил-L-карнитин является предшественником L-карнитина, кофактора одного из главных митохондриальных ферментов — карнитин-ацетилтрансферазы (заменяем это длинное слово аббревиатурой KAT). А липоевая кислота, как вы уже знаете, не только антиоксидант, но и кофактор другого ключевого митохондриального фермента — дегидрогеназы альфа-кетонных кислот. Не вдаваясь в сложные биохимические подробности, скажу лишь, что эти ферменты обеспечивают эффективное «сжигание» клеткой жиров и углеводов — главного биохимического топлива.

Вы, наверное, уже догадались, каким

образом можно было корректно поставить проверочный эксперимент? Именно так наши герои и поступили: измерили скорость работы фермента KAT в мозге молодых и старых крыс, а также крыс, получавших ALCAR, LA и их смесь. Получилось, что смесь действительно «исправляет» дефекты старого фермента, в результате чего тот начинает работать как новый. Кроме того, они провели несколько дополнительных модельных экспериментов. В них было показано, что добавление к чистой KAT малонового диальдегида и родственных ему веществ, которые вырабатываются в результате перекисного окисления липидов, снижает качество работы фермента. Но если предварительно к ферменту добавить смесь ALCAR и LA, ухудшения не происходит.

Подводя итоги, можно сказать следующее:

1. Если самые разные признаки организма выразить цифрами, то можно заметить, что при старении одни из них увеличиваются, а другие уменьшаются.

2. Месячное кормление (хотя их, собственно, поили, но поение звучит как-то не по-русски) старых крыс смесью ацетил-L-карнитина и липоевой кислоты возвращает большинство показателей к «молодой» норме или, по крайней мере, сдвигает их в «молодую» сторону. По отдельности эти вещества действуют так же, но гораздо слабее. Эти изменения я попытался проиллюстрировать на примере одного из биохимических параметров, отражающих эффективность работы мозга (см. рисунок). Это, конечно, грубая схема, упрощенный вариант диаграммы. Тем, кто хочет ознакомиться с биохимической фактурой, лучше заглянуть в оригинальные работы. А если вкратце — как уже отмечалось, подвижность и митохондриальный потенциал заметно улучшились, а остальные исследованные характеристики — память, содержание витамина C в печени, уровень перекисного окисления липидов печени, уровень окислительного повреждения ДНК и РНК в мозгу, скорость работы фермента карнитин-ацетилтрансферазы — полностью вернулись к «молодому» уровню.

3. Фактически получается, что по сумме объективных показателей старые крысы становятся более молодыми. В основе этого лежит улучшение снабжения клеток энергией за счет исправления дефектов ферментов на молекулярном уровне.

4. Немаловажно также, что все эти результаты опубликованы известнейшим современным биохимиком и его учениками в одном из самых серьезных научных журналов — «Proceedings of National Academy of Science USA».

Кстати, публикации состоялись в начале 2002 года, а сейчас на дворе 2006-й. Что же интересного случилось за это время? Постараюсь в меру своей осве-



ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

домленности ответить и на этот вопрос.

У американцев, как и у всех людей, есть, конечно, недостатки, но есть и качества, достойные всемерного уважения. Например, они никогда не тянут с внедрением научных достижений. Так получилось и с лекарством от старости. Уже в 2002 году американская фирма «Biosynergy Health Alternatives» выпустила препарат, содержащий исследованные Эймсом вещества с добавкой коэнзима Q. В аннотации к препарату прямо написано, что это средство против старения.

Эймс же и его товарищи продолжили свои исследования. За последние три года они опубликовали серию работ, посвященных практическому применению лекарства от старости, в том числе для лечения болезни Альцгеймера и паркинсонизма. Кроме того, ими открыта способность гамма-токоферола подавлять развитие опухолей, изучены генотоксические проявления авитаминоза, сформулирована концепция «метаболической гармонии» — самая научная, на мой взгляд, основа рационального питания для современного человека.

Удивительно, как Эймс все это успевает в свои почти 80 лет? Может, все дело в лекарстве от старости?

Что еще можно прочитать о Брюсе Эймсе и его работах.

Владимир Чистяков. Лекарство от старости: теперь его можно купить в аптеке. Ростов-на-Дону, 2006. Электронное издание (vladimirchi@yandex.ru).

Статьи Эймса и его коллег, в которых описан феномен возвращения основных физиологических и биохимических параметров старых крыс к уровням, характерным для молодых, опубликованы в журнале «PNAS» («Proceedings of National Academy of Science USA», 2002, февраль, т.99, № 4, с. 1870–1881 и 2356–2361). Рефераты этих статей и обобщающих экспериментальные данные обзоров есть в общедоступной электронной библиотеке PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>), а полные копии можно получить, послав письмо Эймсу (bames@chori.org) или автору этой статьи.

