

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ



Момент истины



*Отель “Мэриотт”, Манхэттен–Бич, Калифорния
25 июня 2000 г., 4 часа утра*

В КАЛИФОРНИИ ЧЕТЫРЕ ЧАСА УТРА, но мой организм убеждает меня, что сейчас полдень, как в Кембридже. Я измотан дальним перелетом, тем более после целого дня споров со светилами биogerонтологии на обсуждении проблем борьбы со старением, где в “мозговом штурме” сошлись (участие только по приглашениям) такие ученые, как эволюционист Майкл Роуз, исследователь ограничений рациона Ричард Уэйндрак и Джордж Рот, специалист по нанотехнологиям Роберт Фрейтас и другие. Но сон не шел ко мне. Помимо несоответствия географического часового пояса моим внутренним биологическим часам, меня мучило разочарование из-за того, что нам ничуть не удалось продвинуться на пути к выработке конкретного реального плана борьбы со старением. Пока я в раздумье клевал носом, мозг разъедали мысли о природе обмена веществ, о природе старения.

В смутном раздражении я вскочил, провел руками по бороде и принялся мерить шагами комнату, ворочая в уме клубок терзающих меня вопросов. “Нормальный” обмен веществ так запутан, а горячие дебаты в биogerонтологической литературе демонстрировали, как сложно определить, где причина, а где следствие: какие метаболические нарушения становятся причиной старения, а какие представляют собой эффекты или причины второго порядка, которые попросту исчезнут, если ликвидировать первичные причины. Как продуктивно дифференцировать явления в столь сложной и мало понятной системе? Каким образом то или иное значимое изменение метаболизма становится не эфемерно преходящим, как взмах крыла бабочки, а способным

вызывать в дальнейшем существенные негативные пертурбации?

Затем в моей голове выстроился второй ряд мыслей, поначалу мимоходом. Дело, наверное, не в том, какие метаболические процессы вызывают в организме связанные со старением нарушения, но в самих этих нарушениях. У сорокалетнего человека впереди меньше времени в здоровом теле, чем у двадцатилетнего из-за различий в молекулярных и клеточных составе и структурах, а не из-за механизмов, приведших к этим различиям. Насколько удастся сузить круг возможных причин старения, если сосредоточиться на молекулярных нарушениях?

“Не грех составить список”, – подумалось мне.

Что же в него войдет? Конечно, хромосомные мутации, вызывающие рак. Гликозилирование белков (т.е. их деформирующее взаимодействие с глюкозой). Внеклеточные агрегаты: накопление различного “хлама и мусора” в межклеточных пространствах (бета-амилоид, менее изученный *транс*-тиретин и, возможно, другие в том же роде). Вредные внутриклеточные агрегаты, например липофусцин. Старение на клеточном уровне: “возрастные” изменения в отдельных клетках, приводящие их в неделящееся состояние и вызывающие испускание химических сигналов, опасных для соседних клеток; истощение запасов стволовых клеток, необходимых для поддержания и восстановления тканей.

Разумеется, нельзя забыть о митохондриальных мутациях, которые, по видимому, приводят к биохимическим нарушениям в клетках, усугубляя оксидативный стресс. Я некоторое время питал надежду, что эту проблему можно решить путем перенесения копий митохондриальной ДНК из их уязвимого места пребывания в эпицентре образования свободных радикалов, в защищенное от внешних воздействий пространство ядра, где повреждения ДНК случаются гораздо реже.

“Ах, если бы у нас были решения вроде этого для всех прочих проблем, – мечтал я. – Можно было бы тогда забыть об эфемерности нарушений основных процессов обмена веществ и рассматривать нарушения *сами по себе*.”

М–м–м–да...

Ну, а почему, черт возьми, и нет?”

Я вернулся к началу своего списка. Гликозилирование белков? Биохимические компании уже ведут испытания лекарственного препарата, который разрывает нефункциональные сшивки белков, возникающие из-за гликозилирования. Внеклеточные агрегаты? Опять же исследования на животных показали, что эти образования можно ликвидировать путем иммунизации против амилоидных бляшек, что побуждает клетки иммунной системы уничтожать скопления амилоида. По меньшей мере, теоретически существуют разнообразные возможности справляться с клеточным старени-

ем; правда, у меня нет уверенности в том, какие из них в конечном счете принесут успех. Всякий, кто читает газеты, знает, что ученые изо всех сил стараются нивелировать потерю клеток при помощи стволовых клеток, которые культивируют в лабораторных условиях и вводят в организм, тем самым омолаживая его. Что касается липофусцина, то именно на этом пункте своего перечня я почувствовал, что действительно нащупал *нечто*, поскольку годом ранее как раз натолкнулся на способ избавляться от липофусцина; этот способ, едва успев появиться, вызвал пристальный интерес ряда ведущих специалистов в данной области. Относительно рака у меня не было каких-либо радикальных новых мыслей, так что оставалось пользоваться идеями других ученых. Впрочем, это ничуть не портило дела, так как изучение рака идет весьма интенсивно и продуктивно. По поводу других последствий мутаций в ядре клетки я пришел к казалось бы противоречащему здравому смыслу выводу, что они по сути не являются существенной причиной связанных с возрастом нарушений клеточных функций.

Снова и снова я “пробегал” по своему списку, приходя к уверенности, что ему нет явных возражений. Сочетание моей идеи об избавлении от внутриклеточных отбросов типа липофусцина, идеи (поборником которой я был несколько лет) об обезвреживании митохондриальных мутаций и иных терапевтических подходов, разрабатываемых другими учеными во всем мире в отношении рака, гликозилирования, потери клеток, накопления амилоида и старения на клеточном уровне – все это вместе производило впечатление вполне исчерпывающего перечня. Это не значит, что сей перечень *полностью* исчерпывающий – наверняка в организме происходят еще какие-то нарушения. Однако в нынешнем виде он в основном достаточен, чтобы обеспечить людей среднего возраста несколькими десятками дополнительных лет жизни. И этот список был определенно более перспективным первым шагом, чем все предлагавшееся накануне и на других встречах ученых и в научных публикациях, с которыми я знакомился в последние годы.

Десятки лет мои коллеги и я честно изучали старение в том же духе, в каком историки “изучают”, скажем, Первую мировую войну: перед нами безнадежно сложная историческая трагедия, о которой можно размышлять и спорить, но с которой ничего нельзя поделать. Под прессом глубоко ввевшегося убеждения в том, что старение “естественно и неизбежно”, биogerонтология отгородилась от остальных медико-биологических областей, оставшись в благовоейном ужасе перед сложностью изучаемого феномена.

В ту ночь я отшел в сторону всю эту сложность, обнажив новую простоту в полном переопределении проблемы. Я осознал, что для вмешательства в старение не требуется исчерпывающего понимания мириад взаимодействующих процессов, дающих свой вклад в старящие нарушения. Что-

бы разработать терапевтический подход, нужно лишь понять, в чем состоит само старящее нарушение, т.е., выяснить, какие молекулярные и клеточные дефекты нарушают структуру и функции тканей организма. Как только до меня дошла эта простая истина, стало ясно, что мы гораздо ближе, чем могло показаться, к реальным решениям, трактующим старение как медико-биологическую проблему, поддающуюся терапевтическому вмешательству и лечению.

Схватив бумагу, я бегло записал молекулярные и клеточные изменения, которые можно было с уверенностью отнести к важным мишеням новой группы терапевтических подходов в борьбе со старением, названной мною позже SENS (от англ. Strategies for Engineered Negligible Senescence, что значит “стратегии инженерного пренебрежимого старения”). С годами каждое из этих изменений накапливается в организме, давая свой вклад в его патологический упадок в пожилом возрасте. Насколько я мог судить, мой список получился исчерпывающим, но все же я хотел ознакомить с ним своих коллег, чтобы они, возможно, дополнили его. Еще до завтрака я, обуреваемый желанием представить свои новые соображения на суд авторитетов, спустился в зал заседаний, чтобы перевести мои неразборчивые записи в удобочитаемую форму. Но, по правде говоря, мне уже было понятно, что поначалу мои идеи вряд ли будут встречены с энтузиазмом – слишком велик был “сдвиг по фазе”.

Очнитесь: старение убивает!



☞ КАК ВЫ ДУМАЕТЕ, сколько жизней вы можете спасти в течение своей жизни?

Это не игра словами, а вполне серьезный вопрос. Чтобы уточнить свою мысль, я перефразирую его. Когда мы говорим о спасении жизни, имеется в виду, что в результате наших действий “спасаемому” дается шанс прожить дольше, чем он иначе прожил бы. Однако, если задаться вопросом о важности спасения жизни, то надо принять во внимание, что жизни не равноценны. Например, спасли тонувшего 80-летнего старика, благодаря чему он проживет от силы еще несколько лет, а потом умрет от чего-нибудь другого. Если же утопающий – ребенок, то, спасенный, он проживет еще лет 70 или более. Следует также учитывать качество жизни спасаемого, прежде всего состояние здоровья. И заданный выше вопрос прозвучит так:

СКОЛЬКО ЗА СВОЮ ЖИЗНЬ ВЫ МОЖЕТЕ ДАТЬ ЛЮДЯМ В ЦЕЛОМ ЛЕТ ЗДОРОВОЙ МОЛОДОЙ ЖИЗНИ?

Конечная цель моей книги – продемонстрировать, что в вашей власти прибавить к жизни значительно больше времени, чем вы полагаете (настолько больше, что не мешает решить, хотите ли вы того). Путь к этому – помочь ускорить победу над старением. Как конкретно вы поможете – пожертвуете деньги на исследования, например, в организацию Methuselah Foundation`s

Mprize Fund или примете участие в ее деятельности или в научно-исследовательской программе SENS – будет рассказано в главе 15; здесь же я ограничусь обсуждением масштабов достижимого в гуманитарном аспекте.

Сначала немного статистики. Во всем мире каждый день умирает примерно 150 000 человек, т.е. почти двое в секунду. Из них две трети – от старости. Именно так, 100 000 в день. Это примерно в 30 раз больше, чем погибло во Всемирном торговом центре, в 60 раз больше, чем погубил ураган Катрина – каждый день. В промышленно развитых странах доля умирающих от старости составляет 90%, т.е., на каждого погибшего от любой иной причины (убийства, несчастного случая, СПИДа и проч.) приходится примерно *десять* умерших от старости ¹.

Хуже того. Взгляните на уточненную формулировку поставленного в начале этой главы вопроса и обратите внимание на два определения жизни – здоровая и молодая. Многие, размышляя на тему продления жизни, совершают “ошибку с Тифоном”², полагая, что под борьбой со старением подразумевается лишь увеличение продолжительности последнего периода жизни – унылых лет немощи и болезней, завершающих жизнь большинства людей. На самом деле совсем наоборот – победа над старением должна исключить этот период, отдалив его в неопределенно более пожилой возраст, ныне на практике недостижимый. Просто не будет людей дряхлых и болезненных из-за своего возраста. В моей книге речь пойдет не об удлинении жизни как она есть, а о ликвидации бесчисленных связанных со старостью немощей, от которых страдают не только сами старики, но и их родные и близкие. И есть – пусть не столь важный, но все же существенный – финансовый аспект проблемы: исчезновение старения экономит обществу немало средств. Ведь в промышленно развитых странах “средний житель” тратит большую часть отпускаемых на него ресурсов социальной защиты как раз в последний период жизни, вне зависимости от возраста на момент смерти; тут можно говорить о триллионах долларов в год.

В этой книге я разъясню научную и технологическую основу своей точки зрения, а именно того, что в XXI веке, возможно, уже через несколько десятилетий, при жизни ныне живущих людей, которые смогут этим воспользоваться, станет возможным ликвидировать старение как причину смерти. Но прежде нужно вас заинтересовать – не в смысле развлечь занимательной историей, а помочь осознать замечательную перспективу. Мой опыт подсказывает, что для большинства людей не будет достаточно убедительным, если я стану лишь подсчитывать спасенные жизни и расписывать страдания, от которых люди избавятся, изгнав из своей жизни старение. Поэтому читателю придется простить мне прямо-ту перехода к вопросам науки и технологии, обеспечивающим достижение цели.

☞ Почему я написал эту книгу?

Я ученый и в идеальном мире только бы и занимался разработкой новых технологий в области моих интересов, т.е. для борьбы со старением. Я бы не тратил времени на “пиар” – интервью, публичные лекции и писание книг. Но нынешнее отношение людей к старению вынуждает меня сместить приоритеты. Это отношение парадоксально; поясню свою мысль сравнением. У нас в Великобритании, как и во всех странах Запада, ширится движение против табакокурения. На каждой пачке сигарет печатается предупреждение о вреде для здоровья, причем не мелким шрифтом и в обтекаемых наукообразных выражениях, а в броской, разящей манере. Самый простой и короткий слоган такого рода состоит всего из двух слов, обычно печатаемых черным на слепящее-белом фоне: “КУРЕНИЕ УБИВАЕТ”. И медленно, но верно курение теряет популярность. Подобно вождению автомобиля в нетрезвом виде, курение становится неодобряемым в обществе. Правда, это долгий и трудный путь – не только потому, что пристрастие к никотину является, по сути, наркотической зависимостью, но и потому, что молодежь начинает курить вопреки общественному мнению.

Вот об этом последнем обстоятельстве, а именно о продолжающемся притоке молодых неопитов, я и хочу сказать. Я выбрал проблему табакокурения в качестве аналогии с проблемой старения совсем не для того, чтобы осудить курильщиков среди моих читателей. Меня здесь интересует менее противоречивый аспект; ведь борьбу за то, чтобы молодые люди не начинали курить поддерживают по существу все взрослые – курят они сами или нет. Я заговорил об этой борьбе в силу ее *своевременности*: она все еще идет, бросая нам вызов, так что вплотную видны противоречия в отношении людей к проблеме – и в индивидуальном плане, и на уровне общества в целом, – из-за которых так трудно одержать победу. Касательно специфических заболеваний дело бесспорное: чем больше можно сделать, чтобы избавиться от них, тем лучше. А вот относительно курения, несмотря на то, что, как известно, оно приводит к определенным болезням, в обществе имеет место своего рода зависимость, нивелирующая разумное беспокойство о юном поколении, пополняющем ряды злоупотребляющих табаком. Ежедневно мы сталкиваемся с тем противоречием, что, с одной стороны, все видят, как курение ухудшает и сокращает жизнь, а с другой – попустительствуют рекламе и продаже табачных изделий. По-моему, такая же ситуация в отношении людей к старению.

Есть две существенные причины утраты популярности табакокурения и уменьшения терпимости к нему. Одна из них в том, что многие считают курение непривлекательным, в частности из-за запаха (или, ближе к телу,

вкуса). Но вряд ли только благодаря этому в последнее время изменилось отношение к курению, ведь современный табак наверняка не более отвратителен, чем производившийся столетие назад. Думаю, ясно, что основная причина того, что ныне большинство людей не одобряет курения, состоит в его “оборотной” стороне, которая сто лет назад еще недооценивалась: табак действительно вреден для человека и для его окружения. Главное, он значительно увеличивает риск смертельного рака легких, который не только катастрофически сокращает жизнь, но превращает последние годы жизни в мучение.

В этой книге я преследую ту же цель, что и в остальной своей работе: способствовать сдвигу общественного мнения по поводу старения. Я давно заметил, что большинство людей не относятся к старению так, как к раку, диабету или ишемической болезни сердца. Они всецело “за” скорейшую полную ликвидацию этих заболеваний. Мысль же о ликвидации старения, т.е. обеспечении неопределенно долгого, в полном смысле слова молодого физического и психического функционирования организма вызывает лавину страхов и оговорок. Но в самом главном смысле старение подобно курению: оно вредно, оно сокращает жизнь (см. главу 14), оно ухудшает качество жизни в последние ее годы, оно портит жизнь родным и близким. Давайте же пристальнее рассмотрим причины такой странно страстной защиты старения.

☞ Мотивы парадоксального отношения к старению

Прежде всего, хочу подчеркнуть, что мне ясно, что есть глубокая разница между отношением людей к *умеренной* задержке старения и к *полной ликвидации* старения как причины немощи и смерти. Существует целая индустрия средств против старения (которые, заметим в скобках, весьма различны по своей эффективности, порой очень отличающейся от заявленной), потому что никому не нравится дряхлеть, да еще знать, что другие это замечают. Однако большинству кажется ужасной перспектива в конце концов, победить старение, как удалось победить многие инфекционные заболевания, другими словами, исключить старение из причин смерти. Когда речь заходит о такой перспективе, чаще всего первой и нередко прямо–таки истерической реакцией становится расписывание негативных последствий – неуправляемого перенаселения, бессмертных тиранов, элитарного использования средств против старения и прочих “ужасов”.

Нет, я вовсе не считаю эти возражения пустыми. Указанные опасности следуют со всей серьезностью принимать во внимание и заранее готовиться к тому, чтобы справиться с ними. Меня поражает не то, что подобные опасения

высказываются, а то, как они высказываются. Люди, даже вполне рационально настроенные и способные дискутировать на любую другую тему, при попытке собеседника обсудить победу над старением проявляют не поддающуюся описанию невосприимчивость к аргументам. С невероятным упорством они стремятся уйти от темы или свести беседу к обмену остроумными фразочками или выставить противника старения впаавшим в заблуждение простофилей.

Читатель, наверное, уже подумывает, не забыл ли я, о чем здесь собирался говорить. Но, верьте, я никого не осуждаю. Все что мной тут сказано, относится лишь к *логике* вопроса “Почему нужно бороться со старением?”, а жизнь логикой не исчерпывается. Есть очень простая причина того, что люди столь усердно защищают старение. Причина эта в настоящее время утратила основательность, но еще недавно была вполне резонна. До последнего времени не предлагалось сколько-нибудь внятных концепций борьбы со старением, а значит, оно было совершенно неизбежным. А когда человек сталкивается с неизбежностью, притом такой ужасающей, как старение, с которой он ничего не может поделать ни для себя, ни для других, наилучший *психологический* способ справиться с неразрешимой задачей – это попросту выкинуть ее из головы, хотя бы ради собственного спокойствия, и не тратить драгоценное время своей убийственно короткой жизни на бесплодные измышления. Для того, чтобы пребывать в этом состоянии духа, проще всего отвергать малейшее подобие резонности в предмете – и, неизбежно, прибегать к сомнительным иррациональным приемам ведения беседы.

❧ О скептическом отношении к SENS

Эта книга представляет собой описание концепции SENS – стратегий инженерного пренебрежимого старения, моего перспективного плана борьбы со старением. Думаю, многие читатели здесь впервые познакомятся с SENS, но, наверное, найдутся и те, кто знает об этой концепции. В частности, если у вас с некоторых пор есть интерес к продлению жизни, то, скорее всего, вы уже знакомы с SENS через средства массовой информации. В таком случае вам известно, что в то время как многие достойные доверия геронтологи приветствовали концепцию SENS, другие встретили ее суровой критикой вплоть до осмеяния. В этой главе я до сих пор обсуждал лишь слабые места в аргументации *нежелательности* борьбы со старением. Но, чтобы быть уверенным, что вы прочтете мою книгу с истинным вниманием и интересом и, более того, возьметесь за дело с намерением способствовать борьбе, к которой я призываю, требуется убедиться в том, что вы осознаете *достижимость* победы над старением. Поэтому я включил сюда краткий очерк нынешнего состояния дебатов о вероятности успеха SENS.

Нужно отметить, что всякая радикально новая концепция вызывает повышенное внимание и острую полемику в среде специалистов в данной области. Часто бывает, что консервативные критики совершенно правы и новомодные идеи на самом деле ошибочны. Но нередко, однако, скептики не умеют (а порой избегают) разобраться в том, что они критикуют, и/или ими движут скорее экономические соображения, нежели научные доводы. Если вы не человек науки, то, возможно, сочтете следующее предположение несправедливым, но умственные и психические затраты ученых старшего поколения на свои убеждения мешают им быть объективными; все это признают, если не публично, то частным порядком. Ряд выдающихся исследователей прошлого выразили это с горьким юмором в запоминающихся формулировках; например, физик Макс Планк 80 лет назад отметил, что “науку движут похороны”, а биолог Дж. Холдейн сказал так: “Есть четыре стадии в приятии новой идеи: 1) это бесполезная чепуха, 2) это интересная, но ошибочная точка зрения, 3) это верно, но не очень важно, 4) я всегда это утверждал.

С тех пор, как я тружусь в области изучения старения с целью ускорить победу над ним (а не ради богатства и славы!) мне необычайно важно выявлять недочеты, буде таковые найдутся, в концепции SENS, чтобы можно было тотчас вернуться к чертежной доске, так сказать. Для этого я постоянно беседую о SENS с наиболее авторитетными среди биogerонтологов критиками моих идей. И у меня неизменно создается впечатление, что они и в самом деле реагируют на мое основное утверждение (а именно, что SENS может полностью победить старение), не изучив оснований для этого утверждения. Но, конечно, я отдаю себе отчет, что и сам здесь не вполне объективен. Поэтому, а также потому, что скорость осуществления SENS во многом зависит от приятия мысли об ее эффективности, как в научных кругах, так и среди широкой публики, в последние годы я немало работал, чтобы создать убедительные доказательства осмысленности SENS. В 2006 г. мне удалось добиться весьма решительных достижений с помощью видного журнала MIT Technology Review. Опубликовав в 2005 г. довольно отрицательный очерк SENS, его издатель обнаружили, что ведущие геронтологи, на чье мнение они полагались, не имеют желания подкрепить свою оценку какими-либо научными данными. Журнал затем действовал достойным восхищения образом: взяв на себя риск “потерять лицо”, организовал своего рода соревнование на приз, чтобы утрясти дело. Для выигрыша приза авторитетные биологи должны были написать по поводу SENS уничтожающие соображения, которые я, к удовлетворению экспертной комиссии, не смог бы опровергнуть. Эта комиссия должна была быть, разумеется, явно и несомненно беспристрастной, не иметь никакой связи ни со мной, ни с моими критиками, но быть достаточно сведущей в области соответствующих технологий.

Журналу удалось найти пять членов для такой комиссии, включая светило биотехнологии Крейга Вентера. Был учрежден приз размером 10 тыс. долларов, и столько же добавил фонд Methuselah Foundation. Группа из девяти очень авторитетных биogerонтологов любезно предложила соавторское участие, и еще двое ученых – независимое участие; все эти три члена были анонимными. И они категорически не сумели показать, что SENS ничего не стоит.³

Ну, я вовсе не хочу сказать, что это доказывает несомненность успеха SENS в борьбе со старением; есть только один путь доказательства – сделать и увидеть результат. Но, по мнению моих критиков, концепция SENS столь неправдоподобна, что нет смысла даже пытаться осуществить ее. Однако это мнение однозначно опровергнуто вышеупомянутым соизяанием. И если найдется еще кто-то, желающий убедить вас, что SENS – пустая фантазия, особенно если этот кто-то кичится своими знаниями в данной области, то вы теперь, как и издатели Technology Review, отлично знаете: то, что такой скептик *думает* о SENS, куда менее достойно доверия, чем то, что он *знает* об этом. А прочтя эту книгу, особенно ее вторую часть, вы будете во всеоружии для того, чтобы сделать самостоятельные выводы.

☞ Откроем дело, глава за главой

Я в душе борец и никогда не смирюсь со старением, даже если битва покажется проигранной. Но, понятно, трудно ожидать такого от каждого. И я, наверное, не стал бы писать эту книгу, если бы думал, что мы еще слишком далеки от победы и нет реальных шансов добиться успеха на глазах ныне живущих людей. В следующей главе я расскажу, почему старение в принципе столь же поддается воздействию и окончательной ликвидации, как и некоторые заболевания, и продемонстрирую, как неправильная точка зрения привела многих геронтологов к разработке бесплодных, на мой взгляд, терапевтических подходов. В главе 4, завершающей первую часть книги, дается обзор моего плана борьбы со старением, обещающего победу за несколько десятилетий (если все пойдет, как надо). В главах с 5-й по 12-ю второй части подробно описываются отдельные аспекты этого плана. Три главы заключительной третьей части посвящены моим представлениям о том, какой отклик в обществе вызовут первые научные успехи лет через десять, как будут развиваться последующие достижения, загоняя старение в угол, и как вы уже сейчас можете ускорить победу.

В предыдущем абзаце неявно подразумевается кое-что существенное, по поводу чего мне бы не хотелось недоговоренности: предполагаемые временные рамки. Как я думаю, при достаточных научных данных можно ожидать, что с вероятностью 50% в ближайшие 25–30 лет (с разумными допу-

сками на совершенствование технологий) будут разработаны методы, позволяющие прекратить умирание от старения в любом возрасте, аналогично нынешней противовирусной терапии СПИДа. Здесь важно сделать предостережение. Во-первых, я говорю лишь о 50%-ной вероятности. Любое предсказание относительно технологий на 25–30 лет вперед неизбежно весьма спекулятивно; спросите меня, когда можно ожидать 90%-ной вероятности победы над старением, и я, пожалуй, не поручусь и за срок в сотню лет. Но ведь шансы 50/50 не такие уж плохие, не правда ли? Вторая оговорка: старение не будет полностью побеждено первоначальными вариантами новых методов – их надо будет совершенствовать, чтобы удержать старение в узде. Подробнее мы обсудим это в главе 14.

Третье “но” едва ли не важнее: адекватное финансирование научно-исследовательской работы. Для решения этой проблемы был (при моем участии) основан фонд Methuselah Foundation; в настоящее время скорость прогресса на большинстве направлений исследований, необходимых для победы над старением, ограничена финансовыми возможностями. Если вы способны помочь – своими ли деньгами или убеждением раскошелиться ваших знакомых, выступлениями в средствах массовой информации – вы делаете не меньше, чем если бы сами участвовали в научной работе.

Для решения проблемы финансирования критически важна роль вкладов пусть относительно небольших, но сделанных на ранних стадиях реализации плана борьбы со старением. На протяжении всей этой главы я сетовал, что люди вяло относятся к борьбе со старением, и выражал надежду, что своей деятельностью изменю такое отношение. Но, смотря на дело реалистично, не могу не сознавать, что вряд ли этого можно достигнуть быстро, что мизерность общественной поддержки ограничивает и материальную поддержку. Положение радикально изменится, и иллюзии по поводу старения рухнут, как карточный домик, когда появятся наглядные результаты: когда в экспериментах на животных будет показано, что пожилые особи (мыши) помолодеют так, что продолжительность жизни значительно увеличится. Эту вежу я назвал *устойчивым омоложением мыши* (RMR – от англ. robust mouse rejuvenation). Сумма денег, нужная для этого достижения, мизерна по сравнению с теми, которые понадобятся для экстраполяции на человека. Но уж когда выгода для человечества станет очевидной, недостатка в средствах не будет. Именно сейчас, когда единственным значительным источником средств для исследовательской работы является филантропия, масштабы участия частных лиц имеют решающее значение. Мы обсудим это в главе 13.

В этой главе я говорил, *почему* люди защищают старение. Но ничего не сказал о том, *как* они это делают, т.е. о типичных возражениях против перспективы неограниченного продления жизни. Во многих своих печатных

работах и публичных выступлениях, а также на моем Интернет-сайте ⁴ я обращаюсь к разнообразным вопросам, возникающим при обсуждении того, как изменится общество после победы над старением и, в особенности, как мы справимся с переходом к такому обществу. В данной книге эта тема подробно не рассматривается; я счел за благо касаться здесь лишь осуществимости радикального продления жизни. Надеюсь, вы обретете ясное понимание достижимости настоящей победы над старением. Вопрос о том, желаемая это цель или нет, вы тогда сможете решить на более серьезных основаниях – и даже, осмелюсь заметить, с большей ответственностью и сознательностью, чем если бы продолжали считать ее научной фантастикой.

Развенчание мифов о старении



✎ ПСИХОЛОГИЧЕСКИ СТАРЕНИЕ ДЕРЖИТ ЛЮДЕЙ мертвой хваткой с тех самых пор, как они осознали его существование, и хватка эта не ослабевает по сей день. В главе 2 я обсуждал, какое влияние это имеет на желание (или нежелание) людей разумно относиться к трагедии старения, а также пытался объяснить, почему иррациональное отношение к старению имело серьезную основу, пока не было никакой надежды победить старение, и почему теперь оно представляет такое трудно преодолимое препятствие.

Но вот какое есть осложнение. Как уже говорилось, в последнее время достигнут такой уровень знаний, когда можно реально взяться за разработку терапевтических методов для победы над старением; большая часть книги как раз и посвящена отчету о моем подходе к их разработке. Чтобы быть уверенным в сознательном восприятии вами читаемого, я должен заблаговременно расправиться с одним особенно коварным свойством парадоксального отношения к старению: большинство людей в душе понимают, что на самом деле все же *есть* возможность в конце концов победить старение.

В чем же здесь проблема? На первый взгляд может показаться, что моя задача этим облегчается, так как означает, что иррациональное отношение к старению поверхностно. Но, увы, самодостаточные заблуждения штука не простая. Точно так же, как это отношение парадоксально трактует *желательность* старения, чтобы примирить с ним человека, оно парадоксально понимает *осуществимость* победы над старением до тех пор, пока вероятность скорой победы остается низкой. Если вы осознаете, что есть хотя бы 1%-ный шанс побороть старение, пока вы (или кто-то, кого вы любите) еще живы, эта искра надежды заронит сомнения, и будет подтачивать ваше терпимое отношение к старению, как бы усердно вы ни пытались убедить себя, что стареть вовсе не так уж плохо. И наоборот, если вы свято верите,

что старение непреложно, то будете еще крепче спать.

Ключевыми в сказанном являются слова “до тех пор, пока вероятность скорой победы остается низкой”. Когда же эта вероятность вырастает до существенной величины, есть смысл взяться за работу, чтобы еще увеличить шансы. Под работой я разумею здесь, конечно, не только и не столько собственно научно–исследовательскую деятельность, а просветительские, агитационные действия, помогающие другим (не в последнюю очередь тем, от кого зависит финансирование науки) очнуться от заблуждений. Напротив, если вероятность победы над старением действительно очень мала, несмотря на все старания, то чаша весов, балансирующих между ценой и выгодой, сместится в другую сторону, в пользу иррационального отношения к существованию шанса на победу при всех “за” и “против” старения.

Поэтому в данной главе я собираюсь описать практические стороны старения, чтобы оно перестало быть загадочным для вас. Тем самым я рассчитываю продемонстрировать, что расхожее представление о старении как о специфическом феномене, отличном от других состояний здоровья и недоступном даже теоретически для возможностей медицины, не соответствует установленным фактам. Таким образом, к концу этой главы вы, по моему плану, окажетесь в двусмысленном положении человека, все еще *желающего* верить (ради спокойствия духа), что старение непреложно, а потому и нечего из-за него переживать, но уже *неспособного* верить. Вот с этого момента моя задача будет сравнительно легкой: объяснить, почему вероятность победы над старением в обозримом будущем не только отлична от нуля, но и достаточно высока, чтобы оправдать мое разрушительное вмешательство в ваши представления о старении. Оправдать – поскольку, лишившись иллюзий, вы – да, именно вы – сможете повлиять на скорость наступления победы над старением. А результат этих усилий намного перевесит душевный комфорт, который находили бы в своей прежней уверенности, что старение непобедимо.

❧ Иллюзорная грань между старением и болезнью

Обычное дело – умереть от старости, но, если верить тому, что пишется во врачебных заключениях о смерти, в наше время это редкая причина перехода в мир иной. Формулировка “смерть от естественных причин” была общепринятой для тех случаев, когда человек умирал в пожилом возрасте без явных идентифицируемых патологических изменений в организме. Однако теперь она считается недопустимо неинформативной, и официальные лица, которым положено свидетельствовать смерть, должны представлять более конкретные сведения.¹

Но всем известно, что и в самом деле очень мало кто расстается с этим миром не из-за сердечного приступа, воспаления легких, гриппа, рака или инсульта, а по “естественным причинам”: тихо-мирно, во сне, просто потому, что сердце перестало биться – такие “счастливчики”, несомненно, умирают от старости.

Здесь я вынужден первый – из, увы, многих в этой книге – раз заняться неприятным делом выявления серьезного искажения фактов, совершаемого – зачастую ненамеренно, как я понимаю, – очень многими ведущими исследователями в области биogerонтологии (науки о процессе старения). Это искажение вообще уже было замечено как ужасная ошибка, но катастрофические последствия для биogerонтологии все еще чувствуются и, вероятно, будут сказываться многие годы. В 50-х – 70-х годах, когда геронтология оформлялась как законная биологическая наука, сложилась привычка рассматривать старческие немощи двояко: с одной стороны, как возрастные заболевания, с другой – как “собственно старение”. Основанием для этого разделения считалось то, что стареют все, но не все страдают возрастными заболеваниями. Однако истинным *мотивом* служило чисто практическое соображение: отграничивая свою собственную область знаний, геронтологи рассчитывали и на финансовую самостоятельность.

И такое отграничение удалось. В США был создан (как говорят, пока президент США Ричард Никсон не обращал особого внимания) Национальный институт старения.² Вроде бы это хорошо. Но – хорошо, да не очень. Всем геронтологам отлично известно, что заболевания, называемые возрастными, на самом деле с возрастом связаны лишь внешне: они отмечаются преимущественно у пожилых людей потому, что развиваются из-за старения или, другими словами, потому, что старение представляет собой не более и не менее как *совокупность ранних стадий* различных “возрастных” заболеваний. Геронтологи знали это и тогда. И им следовало бы видеть, что, размахивая лозунгом “Старение не болезнь”, они сами перед собой возвели колоссальное препятствие. Власть имущие задались вопросом: “Если это не болезнь, то чего ради тратить деньги на борьбу с ним?” Такое отношение, начавшись десятки лет назад, сохранилось по сей день, и непохоже, чтобы оно менялось. Сейчас геронтологи кричат на всех углах, что, если отодвинуть старение хотя бы немного, это даст гораздо большую выгоду для здоровья, чем победа над отдельными заболеваниями. Но им снова и снова отказывают в денежной поддержке.³ По-моему, именно некорректные выступления и неверная политика геронтологов в предыдущие десятилетия спровоцировали закрепившееся сопротивление простой, очевидной (и общепризнанной среди специалистов) истине: отодвинуть старение потенциально выгодно.

Я сказал, что возрастные заболевания – это просто следствия старения. Объясню, почему. Параллельно я также попытаюсь рассказать, почему старение происходит с разной скоростью как в пределах одного организма, так и у разных индивидов и у разных видов живых существ.

☞ Почему старению не нужны часы

Из того факта, что какая-то часть людей умирает от “естественных причин”, а не от конкретных болезней, на первый взгляд следует, что процесс старения независим от болезней: нечто увеличивает подверженность человека заболеваниям (и потому заболеваемость в пожилом возрасте увеличивается), и это нечто само приводит к смерти, если никакая болезнь его не опередила. Но такое рассуждение верно лишь отчасти. Действительно, пожилые люди более восприимчивы к инфекционным заболеваниям, потому что при старении ухудшается иммунная система. Однако возрастные заболевания в большинстве своем неинфекционные, а полностью или преимущественно внутренние; инфекция, если и присутствует, то как дополнение. Возьмем, например, рак. Некоторые раковые заболевания поражают молодых людей, но, как правило, рак редко начинается ранее 40 лет (за исключением случаев генетических дефектов – врожденных нарушений репарации ДНК). Некоторые раковые заболевания вызываются вирусной инфекцией; наиболее известен в этой группе рак шейки матки, вызываемый вирусом папилломы человека. Однако в основном раковые заболевания обусловлены тем, что со временем в хромосомах накапливаются мутации. Мутации неизбежны – так уж устроены живые организмы. Чаще всего они возникают во время удвоения хромосомной ДНК в процессе деления клетки. Таким образом, накопление мутаций – это часть старения, а рак – его следствие или, если угодно, часть поздних стадий старения.

Звучит несложно, правда? Но в подтексте вышесказанного – неявное предположение (распространенное и среди биологов), что старение – это загадочное явление, качественно отличное от любого заболевания и не поддающееся биологическому объяснению. Такому предположению есть несколько основных резонансов; я их кратко опишу и покажу, почему они ошибочны.

Первое. Старение происходит гораздо медленнее, чем обычно развиваются заболевания. Столь медленно, что мы едва замечаем его прогрессирование, тогда, как явственно осознается более быстрое развитие состояний вроде рака или диабета. Разница эта весьма бросается в глаза, но, ее, собственно, и следовало ожидать, ведь старение идет по нисходящей спи-

рали. Чем старше человек, тем хуже работают восстановительные механизмы, тем менее способен организм воспрепятствовать старению, тем оно быстрее и быстрее. Поэтому поздние стадии старения, т.е. болезни, ожидаемо развиваются быстрее, чем ранние стадии.

Второе. Вводит в заблуждение то обстоятельство, что старение происходит с очень разной скоростью у разных видов, но с удивительно одинаковой скоростью у разных особей одного вида. Из этого обстоятельства можно заключить, что старение происходит согласно неким внутренним часам, которые у разных видов задают разную скорость. Отсюда предполагается, что эти часы каким-то образом не поддаются медико-биологическому вмешательству, поскольку для изменения их скорости нужно перестать быть человеком. Но так считать неверно по двум причинам. Во-первых, если бы и существовал внутренний часовой механизм, все равно в принципе можно было бы отложить старение, не меняя его скорость – я остановлюсь на этом ниже. Во-вторых, почему, собственно, внутренние часы не могут поддаваться воздействию? То, что особи одного вида стареют с одинаковой скоростью, является лишь следствием их генетического сходства. Тут нет ничего, указывающего на невозможность воздействия средствами медико-биологических технологий.

Пожалуй, наиболее распространенной основой для веры в “часы старения” служит тот факт, что различные проявления старения (включая возрастные заболевания) отмечаются в более или менее определенном возрасте у особей одного вида. Уж наверняка это значит, что действительно есть некий центральный часовой механизм, отсчитывающий срок для начала развития этих проявлений и заболеваний – так, казалось бы? Нет, не так, и тоже по двум причинам. Во-первых, как раз такого вроде бы расписания можно ожидать, если немощи старческого возраста являются поздними стадиями многогранного процесса упадка в той мере, в какой организм как единая система обладает ключевым свойством – высокой степенью *взаимосвязанности* различных цепей причин и следствий. Если на протяжении жизни многое идет неправильно, и накопление этих дефектов по обратной связи усугубляет их самих и ускоряет *друг друга*, то неизбежно все изменения будут развиваться с более или менее одинаковой скоростью и достигать критического уровня (проявляясь клинически идентифицируемым заболеванием) примерно в одном и том же возрасте. И такая взаимосвязанность, без сомнения, имеет место в процессе старения.

Во-вторых, если задуматься об эволюционной основе старения, то легко видеть, что даже без существенной взаимосвязанности между цепями событий, ведущих к различным возрастным заболеваниям, все равно следует ожидать их появления в примерно одном и том же возрасте. Дело в том, что если, допустим, в организме имеются гены, защищающие от какой-либо

конкретной причины смерти столь эффективно, что обладающие ими особи умирают от иных причин раньше, чем от этой, то защищающие от нее гены не подвергаются действию естественного отбора и в них будут из поколения в поколение накапливаться случайные мутации (не смертельные). И через эволюционно значимое время качество этих генов ухудшится до уровня, когда они уже не защищают от “своей” болезни, и она будет развиваться в примерно том же возрасте, что и другие связанные со старением заболевания.

Также обычным (но некорректным) основанием считать старение отличным от прочих патологий служит то, что оно “всеобщее”, т.е. происходит с каждой особью. Да, если организм живет достаточно долго, в нем появляются признаки старения. Но это лишь следствие того, что я говорил ранее о скоростях: что старение происходит относительно медленно по сравнению с развитием связанных с ним заболеваний. Эти последние прогрессируют от диагностируемой стадии до конечной (смерти) довольно быстро; во многих случаях человек умирает от какого-либо из таких заболеваний раньше, чем появляются другие возрастные патологические изменения или, по крайней мере, на их ранних, не диагностируемых стадиях. Но если бы у данного индивида не было этого, приведшего к смерти заболевания, то он прожил бы достаточно, чтобы проявились другие связанные со старением расстройства. Собственно, все возрастные заболевания всеобщие в том смысле, в каком следует ставить вопрос, а именно любое из них вы наверняка “заработаете”, если его не опередит другое из той же компании.

Итак, в заключение этой главы я выражаю надежду, что убедил вас: старение не является чем-то мистическим, роковым, недостижимым для нашего влияния. Нет никакого неумолимо тикающего часового механизма – есть лишь накопление нарушений. Старение живого организма, как старение автомобиля или здания, зависит от, скажем так, ухода. Существуют произведенные лет сто назад автомобили, которые отлично ездят, и тысячекратней постройки здания (по крайней мере, в Европе), которые вполне служат своему назначению, хотя сконструированы они были без расчета на столь долгий срок службы. Прецедент машин и строений дает, по меньшей мере, основание для осторожного оптимизма по поводу того, что старение возможно отложить на неопределенное время путем достаточно тщательных и регулярных поддерживающих мероприятий.

☞ Что проглядели специалисты

Сказанное выше хорошо известно тем, кто профессионально изучает старение – биогеронтологам. Однако, если посмотреть, *каким образом* они исследуют возможности задержать старение, то создается впечатление, что они

ничего этого не знают. Когда исследуются возможности борьбы с каким-либо заболеванием, изучают развитие патологических изменений и ищут способы его прервать. А в геронтологии преобладает иной подход к разработке вмешательства: сравнение организмов, стареющих с разной скоростью – представителей разных видов или особей одного вида, поставленных в разные условия, – с тем, чтобы скопировать или экстраполировать обнаруженные различия и, тем самым, замедлить старение. По сути это значит заранее признавать свое поражение; они даже не пытаются прервать или нарушить нежелательный процесс, относясь к нему как к “черному ящику”. Это особенно удивительно, если принять во внимание, что биogerонтологи определенно усердно работают, анализируя старение в стремлении понять его – но не для того, чтобы победить (к сожалению, эти две задачи предполагают различный анализ)! А ведь наиболее перспективный способ задержать старение – это остановить механизм его развития, как это делается для борьбы с конкретными заболеваниями. Таким образом, поскольку старение есть накопление нарушений, следует искать способы ослабить их накопление. Я вернусь к этому и рассмотрю подробнее в следующей главе и далее.

☞ Почему задержать старение легче, чем не дать выйти из строя сложной машине

Теперь займемся другой причиной приверженности людей к представлению о том, что старение принципиально недоступно медико-биологическому вмешательству. Если рассматривать старение лишь как нарушение, а организм как сложную машину, то резонно полагать, что для ослабления старения можно применить такой же подход, как к сохранению работоспособности машины. Но справедливо отмечается, что живые организмы способны к саморемонту и самоуходу, а машины – нет, а значит, старение людей вовсе не аналогично старению машин. И делается вывод, что принципиальная возможность поддержания функциональности машин нельзя считать основанием для уверенности в существовании принципиальной возможности поддержания функциональности живого организма.

Логично ли такое рассуждение? Да, у нас имеются восстановительные поддерживающие механизмы. Почему же, черт возьми, из-за этого *труднее* поддерживать функционирование организма? Очевидно, верно обратное: если живой организм автоматически поддерживает себя, так тем меньше объем работы для стороннего вмешательства.

Хочу подчеркнуть, что вовсе не считаю задачу легкой. Живые организмы неизмеримо сложнее любой созданной людьми машины, притом не чело-

век их конструировал, так что нам теперь приходится разбираться в устройстве системы по ее функционированию, чтобы понять, как его поддерживать. Но это замечание не меняет логики обсуждаемого: природная врожденная способность к самовосстановлению – наш союзник, а не враг.

❧ Отсрочка старения в лабораторных условиях – не только теория

Наконец, я могу удовлетворить нетерпение некоторых читателей чем-то реальным, показав, что старение не является таинственным феноменом, мистически недостижимым для нас, простых смертных. Я хорошо знаю, что для большинства людей теоретические рассуждения не вполне убедительны, даже если они безупречны. Для таких читателей – в их числе, возможно, и вы – психологически легче принять вывод, если он подкреплен весомыми фактами. Вы будете приятно удивлены узнать, что на протяжении десятилетий ученые искали способ удлинить жизнь в лабораторных опытах на различных живых существах. И, что особенно отрадно, предпринимались попытки продления не последнего периода жизни, когда организм теряет жизненную силу, и не период достижения зрелости, а как раз зрелость – время максимальной жизнеспособности и наилучшего состояния здоровья.

Один очень основательный метод продления жизни был предложен более 20 лет назад тогда молодым канадским ученым по имени Майкл Роуз, который сейчас профессор Калифорнийского университета в Ирвине. Роуз – эволюционист; в то время он уже имел глубокие знания о путях эволюции, оптимизирующих индивидуальную продолжительность жизни соответственно экологической нише данного вида. До него дошло, что возможно путем селекции *вывести* дольше живущие организмы (в духе книг Роберта Хайнлайна о Лазарусе Лонге) если на протяжении многих поколений допускать к размножению лишь наиболее долгоживущих особей (точнее, особей с наиболее продолжительным репродуктивным периодом). Тут потребуются гораздо больше поколений, чем у Хайнлайна, но Роуз ставил опыты на плодовых мушках, которые достигают половой зрелости всего через неделю после их зачатия. И метод Роуза дал замечательный результат: ему удалось вывести особей с продолжительностью жизни вдвое больше исходной.⁴

У этого метода, пусть и впечатляющего, есть важное принципиальное ограничение – возможно, вы его уже заметили. А именно: он срабатывает лишь через несколько поколений, т.е. дает эффект не для вас лично, а для ваших пра-пра-пра... внуков. Роуз, разумеется, это тоже понимал и позже много сделал, чтобы выявить генетическую, молекулярную основу достигаемого его методом удлинения жизни, имея в виду терапевтическое воз-

действие на людей, имеющих несчастье жить в наше время. Но пока что все, чего он добился – это долгоживущие *отдаленные потомки* короткоживущих мушек.

К счастью, другие попытки продления жизни в лабораторных условиях не обладали этим недостатком. Первый и наиболее известный способ отсрочить старение был открыт еще в 1930–е годы Клайвом Маккеем в экспериментах с мышами.⁵ Этот способ называют ограничением калорийности рациона, или иногда рестрикционной диетой, энергетической или пищевой рестрикцией. Принцип тут очень простой: если давать грызунам (или различным другим животным) несколько меньше корма, чем им хочется съесть, то они живут дольше, чем если бы ели “от пуза” (сколько захотят). Дело не в том, что животные, если дать им волю, переедают и приобретают лишний вес: и те особи, которые сами по себе потребляют умеренное количество пищи, сохраняя постоянную массу тела на протяжении большей части своей жизни, тоже живут дольше, когда получают меньше корма.

Следующий существенный шаг (не считая сделанного Роузом) на пути к отсрочке старения совершил генетик Том Джонсон, экспериментировавший с третьим из хорошо изученных видов живых существ – круглым червем *Caenorhabditis elegans*. Строго говоря, не Джонсон первым открыл явление, о котором я сейчас расскажу, – эта честь принадлежит одному из его коллег. Но Джонсон многие годы возглавлял и направлял работу над проблемой продления жизни, и эта работа ассоциируется с его именем. Поэтому я здесь буду называть их подход методом Тома Джонсона, а не как-либо иначе. Он и его сотрудники обнаружили и изучали один идентифицированный ген, который сам по себе, без какого-либо давления отбора со стороны экспериментатора, обуславливал, по меньшей мере, 50%-ное продление периода зрелости у *Caenorhabditis elegans*.⁶ Это потрясающий прорыв, так как отдельные гены можно модифицировать “в пробирке” и затем ввести в организм методами *генной терапии*: внедрить новый ген либо в половые клетки данного организма, так что соответствующий признак появится лишь у потомков, либо в соматические клетки данного организма, так что эффект будет уже у самой этой особи. Соматическая генная терапия применительно к людям делает еще только первые шаги, но есть уверенность в том, что рано или поздно этот подход дойдет до практического уровня. Что касается генной терапии через половые клетки, то с ней сопряжены этические проблемы (хотя есть технологические возможности их избежать). Но как доказательство общего принципа задержка старения путем единичного генетического изменения гораздо ближе к клиническому применению, чем отбор на протяжении ряда поколений, затрагивающий неизвестное множество генов.

Вероятно, по этой причине, а также благодаря примененным Джонсоном экспериментальным методам его результаты вызвали целую волну попыток идентифицировать генетические изменения, отсрочивающие старение, у лабораторных животных. Вал таких исследований нарастал несколько лет, а когда еще одному научному коллективу (а именно, группе Синтии Кеньон в Калифорнийском университете в Сан-Франциско) удалось идентифицировать мутацию в другом гене *Caenorhabditis elegans*, продлившую жизнь еще больше, чем в опытах Джонсона и его коллег, тема генной терапии старения стала актуальнейшей в биологии.⁷ Почти все лучшие работы Кеньон и других ведущих биogerонтологов публиковались в самых престижных научных журналах, появление на страницах которых считается большой и редкой честью в ученых кругах.

Мутации, обнаруженные Джонсоном и Кеньон, затрагивали разные гены, но эти гены участвовали в одной, по сути, области процессов обмена веществ. В частности, они способствовали реализации альтернативного хода развития нормальных немутантных особей *Caenorhabditis elegans*, называемому формой дауэр. Когда личинка нематоды следует по этому пути, ее развитие задерживается на время, которое может намного превышать продолжительность всей жизни особи, развивающейся по нормальному типу (не дауэр). Чем определяется, какой путь развития будет избран? Чем возобновляется развитие по нормальному пути к достижению зрелости? Оказывается, переключателем на путь дауэр служит голодание, а выход из этого состояния инициируется наличием пищи. Другими словами, путь развития по типу дауэр у нематод является не больше и не меньше, как экстремальным вариантом наблюдаемой у грызунов реакции на ограниченность калорийности рациона.

После открытий Джонсона и Кеньон были обнаружены многие другие мутации – не только у нематод, но и у плодовых мушек, и у мышей, – которые увеличивали продолжительность жизни, и почти все эти мутации также нарушали генетические механизмы, опосредующие чувствительность к пище или метаболизм питательных веществ. Как правило, мутационная отсрочка старения получалась самое большее такая же, как вызываемая просто ограничением потребления калорий.⁸ Было несколько публикаций, сообщавших о продлении жизни у мышей в результате уменьшения *оксидативного стресса*,^{9,10,11} но я бы с осторожностью относился к воспроизводимости описанных в них результатов, потому что было и немало безуспешных попыток этим способом отсрочить старение у мышей в лабораторных условиях.

Здесь можно указать на прямо–таки неотразимый, завораживающий аргумент в пользу того, что стоит заниматься старением. Мы можем *в принци-*

не уметь откладывать старение на значительный срок; более того, *это уже сделано* в лабораторных экспериментах, что, безусловно, является большим основанием для надежды добиться того же применительно к человеку в не слишком далеком будущем.

Ведь так?

Вообще–то, я вряд ли стал бы писать книгу, если бы это не было моим конечным выводом. Правда, тут существенно слово “конечный”. Прежде чем завершить данную главу, я должен объяснить, почему ограничение калорийности рациона и его генетический эквивалент не являются указателями к многообещающему пути борьбы со старением человека.

☞ Ограничение калорийности рациона и его имитация – неверное начало

Есть ли среди ваших знакомых перфекционисты? У меня есть. Собственно, всегда имелись, потому что такой была моя мама. Несомненно, без моей матери я не стал бы тем, чем стал, и в этом играло роль ее влияние на меня, равно как и мамин беззаветный тяжелый труд и целеустремленность дать мне наилучший возможный жизненный старт. Но кое в чем ее участие в моем развитии состояло в негативном примере, каковым – и, пожалуй, наилучшим – явился ее перфекционизм. Полагаю, эта черта характера во многом помешала моей матери добиться в жизни большего, а потому я никогда не позволял себе стать на такой путь, о чем никогда не жалел.

Что плохого в перфекционизме? Это всем известно: главное, он *пожирает время*. Обычно люди заинтересованы в результате своей деятельности, и во многих ситуациях наилучшая стратегия сделать быстро, но грязно, если достоинство “быстро” перевешивает недостаток “грязно”. Правда, в других обстоятельствах может быть предпочтителен, наоборот, более кропотливый, тщательный подход. Следовательно, в идеале нужна верная интуиция, чтобы судить, в какой мере следует уделять внимание мелочам в каждом конкретном случае.

Читатель может счесть, что в предыдущих двух абзацах я сильно отклонился от темы, но позвольте удивить вас тем, что цепочка моих рассуждений непосредственно касается ограничения калорийности рациона. Нас вернет к предмету разговора всего одна фраза: увеличение продолжительности жизни в ответ на сокращение потребления питательных веществ представляет собой не более и не менее как проявление генетически запрограммированной интуиции для оценки степени внимания к деталям, оптимальной для повседневного функционирования на молекулярном и клеточном уровнях, практически недоступное для существенного усиления ожидаемыми медико–биологическими методами.

Тут следует некоторое уточнение, так что приступим.

Выше в этой главе говорилось, что у большинства видов нет никаких генов старения просто постольку, поскольку гены сохраняются в череде поколений, если они в достаточной степени обеспечивают какие-либо преимущества (и потому подвергаются достаточному давлению отбора, способствующего их сохранению), перевешивающие влияние постоянного появления случайных мутаций, возникающих во всех генах в ходе эволюции; кроме того, ген не может дать никакого преимущества, если он лишь участвует в процессе, происходящем в любом случае. Старение имеет активный генетический механизм только у тех видов, у которых (как у лосося) есть та или иная причина стареть и умирать быстро, а не из-за упадка системы, прежде долго функционировавшей нормально. Медленное старение, наблюдаемое у подавляющего большинства видов, происходит именно как упадок, поэтому, если бы и были вызывающие его гены, они бы не сохранились в ходе эволюции.

А вот для чего у нас точно есть гены, так это для, напротив, сложнейшего комплекса взаимодействующих процессов, в ходе которых живой организм развивается из одной-единственной клетки, достигает половой зрелости и сохраняет жизнеспособность и плодовитость до возраста, в котором (в дикой природе) становится велика вероятность испытать голод, стать жертвой хищника и т.п. Да в чем же тут перфекционизм? Гены, обеспечивающие должное функционирование организма вплоть до высокого уровня вероятности его гибели, нужны потому, что чем дольше репродуктивный период, тем больше потомства оставит данная особь, тем больше шансов для передачи ее генов следующим поколениям.

Что касается начала репродуктивного периода, тут та же логика: чем раньше достигается половая зрелость, тем больше потомства особь может произвести до своей смерти. Но начало и окончание репродуктивного периода не являются независимыми друг от друга. Рост и развитие организма из единственной клетки в половозрелую фертильную особь – это сложнейший из известных природных процессов, и в ходе его всегда случаются ошибки. Ну, вот теперь уже виден свет в конце туннеля: организм стоит перед выбором – либо рост и развитие происходят быстро, но грязно, что дает раннюю половую зрелость, но несовершенную систему, либо (более перфекционистски) создается более надежная система, позже достигающая половой зрелости. Менее совершенно устроенный организм в среднем живет меньше, – отчасти потому что менее способен защитить себя от хищников, стихийных бедствий и т.п., но также и потому, что молекулярные и клеточные нарушения, которые допускались ради быстреего перехода к размножению, в итоге дают начало процессу старения. Есть мно-

жество свидетельств того, что вышесказанное – это не теоретизирование, пусть и резонное, а отражение реальности: например, среди видов с одинаковыми размерами тела продолжительность жизни больше у тех, которые позже достигают зрелости.

Итак. Какова связь того, о чем мы только что говорили, с обсуждавшимся выше ограничением калорийности рациона, развитием по типу дауэр и связанными с ними генетическими манипуляциями? Да очень простая. В экстремальных обстоятельствах (стихийные бедствия и т.п.) передача генов следующим поколениям затрудняется. Во-первых, на размножение нужно много энергии, а ее источником является пища. Во-вторых, сколько бы потомства особь не произвела в период бедствия, большая часть его, скорее всего, погибнет от голода прежде, чем в свою очередь размножится, а это с точки зрения сохранения генов в ряду поколений ничуть не лучше, чем вообще не иметь потомства. Таким образом, преимущество (в смысле генетического наследия) быстрого созревания в периоды нехватки пищи меньше, чем в периоды ее избытка. Но остается неизменным связанный с быстрым созреванием недостаток, а именно меньшая устойчивость организма и более высокая вероятность гибели. Фактически, вероятность гибели может и возрастать: если период бедствия захватывает большую часть жизни особей данного вида, то шансы оставить потомство будут у более долгоживущих, более совершенных особей. В такой ситуации преимущество более совершенного устройства организма (и недостаток несовершенной системы) окажется больше во время бедствия и нехватки пищи, чем в период достаточных ее источников.

Таким образом, голодание сдвигает вероятность эволюционного успеха в сторону более тщательного индивидуального развития. Поскольку стихийные бедствия непредсказуемы и случайны во времени и пространстве (и всегда были такими, по крайней мере, с тех пор, как одни организмы живут за счет других) в ходе эволюции не может сложиться механизм оценки необходимой и достаточной степени перфекционизма: каждая особь должна обладать способностью справляться с обстоятельствами. Неудивительно, что повсюду в природе можно найти примеры того, как генетические механизмы заставляют особей отвечать на экстремальную обстановку на ранних этапах жизни замедлением или остановкой роста.

Как вам, возможно, известно, и у взрослой особи голодание часто вызывает тот же эффект в более умеренной степени; это, по-видимому, не объясняется вышесказанным. Действительно, может и не быть таких четких эволюционных причин для отсрочки старения под влиянием ограничения калорийности рациона в зрелом возрасте. Они и не нужны, потому что генетические программы, существующие на одно определенное время или об-

стоятельство жизни, часто активируются без необходимости в сходных ситуациях. Например, если человека испугать, у него происходит выброс в кровь адреналина, а эта реакция вообще-то существует для ускорения бегства в ситуациях, угрожающих жизни.

Наконец, следует объяснить, почему та логика, которую я здесь наметил в общих чертах, предполагает, что манипулирование механизмами, связанными с чувствительностью организма к питанию, мало что обещает для отсрочки старения у человека. На то у меня три резона.

Первое. Та степень продления жизни, которой удалось на сегодняшний день добиться у различных видов, характеризуется обескураживающей закономерностью: этот подход более эффективен у короткоживущих видов, нежели у долгоживущих. Как уже говорилось, нематоды вследствие голодания в подходящий период развития живут в несколько раз дольше, чем в норме; так же и плодовые мушки. У мышей и крыс удается добиться лишь примерно 40%-ного продления жизни. Исходя из этого, я несколько лет назад задался вопросом, не окажется ли, что у людей эффект еще меньше, и быстро сообразил, что и в самом деле тому есть простая эволюционная причина.¹² Это следствие того факта, что продолжительность стихийного бедствия определяется окружающей средой и не зависит от естественной скорости старения попавших в экстремальные условия живых организмов.

Второе. Приспособительные изменения обмена веществ при недостатке пищи лишь ненамного замедляют накопление молекулярных и клеточных нарушений, не вызывая репарации уже произошедших повреждений. Как я отмечал выше, ключевым моментом истины в моей разработке SENS было осознание того, что репарация связанных со старением повреждений (прежде, чем они выльются в заболевания) может быть проще их предупреждения. Но, *даже если отставить это соображение*, восстановление должно быть предпочтительным просто потому, что любое осуществимое лечебное воздействие (будь то репарация или профилактика) будет только *частичным*. То есть восстановительное вмешательство ликвидирует повреждение/нарушение не полностью, а профилактическое воздействие замедлит, но не остановит накопление нарушений. Почему это означает, что репарация предпочтительна? Логика тут простая. Вообще говоря, если у человека среднего возраста вдвое уменьшить скорость старения, то удвоится срок оставшейся ему жизни, но *ко всей* продолжительности жизни добавится в целом только 20%. А если тому же индивиду в том же возрасте вдвое уменьшить массу уже *накопившихся* повреждений/нарушений и применять такое воздействие периодически на протяжении всей оставшейся жизни, то в результате удво-

ится его продолжительность жизни *в целом* (потому что накапливаться будут только те повреждения/нарушения, которые не репарируются применяемыми воздействиями); соответственно, срок *оставшейся* жизни (от момента первого воздействия) увеличится в 4–5 раз! Профилактически ориентированные подходы так высоко и не замахиваются.

Есть еще третий, решающий резон для того, чтобы не считать чувствительность к пище перспективным объектом медико-биологического вмешательства в старение. Продлить жизнь у многих организмов одним лишь голоданием оказалось весьма легко потому, что при этом включался возникший в ходе эволюции ответ на условия окружающей среды. Механизмы этого ответа невероятно сложны и мало понятны (как и все остальное в биологии), но, несмотря на сложность, ими можно управлять, поскольку прост начальный шаг – чувствительность к наличию пищи. Точно так же для того, чтобы включить или выключить компьютер, не нужно разбираться, как он работает, нет необходимости понимать, каким образом отсутствие пищи вызывает переориентировку множества взаимодействующих метаболических процессов, для того, чтобы привести в действие или остановить механизм этой переориентировки. Но здесь сокрыта некая препона. Не нужно знать, как действует компьютер, чтобы включить или выключить его, но для того, чтобы он стал делать нечто, не предусмотренное его конструкцией и/или программным обеспечением, надо все же немного понимать в компьютерах. И если для новых операций необходимы программы, которых еще нет или которые нельзя установить, от пользователя требуется гораздо больше знаний, хотя бы столько, сколько нужно, чтобы создать новые программы самому. Человеческий организм в этом смысле подобен компьютеру, в который нельзя установить новую программу – он очень многогранный, но эта многогранность не может быть расширена теми же способами, которыми создана имеющаяся многогранность. Следовательно, можно быть уверенным, что существует некая фиксированная степень продления жизни, которой можно достигнуть, используя чувствительность к пище – будь то собственно ограничение калорийности рациона или введение в организм веществ, вызывающих такую же реакцию, как нехватка пищи, или генетические изменения, затрагивающие тот же переключатель. Как говорилось выше, предел возможностей тут, на мой взгляд, довольно скромный – может быть, дополнительные 2–3 года и все, потолок; некоторые мои коллеги полагают, что 20–30 лет, но все равно это предел. Как бы мы ни старались, превысить фиксированную степень продления жизни таким способом невозможно.

❧ Не блестяще, но лучше, чем ничего

Тем не менее, я хочу закончить эту главу в мажоре. Пусть через чувствительность к пище можно продлить жизнь лишь на ограниченный срок, пусть этот срок невелик – все лучше, чем ничего! Притом эксперименты на животных показали, что особи, генетически предрасположенные к непродолжительной жизни, больше выгадывают от продления жизни через чувствительность к пище, чем изначально более долгоживущие особи. Вполне вероятно, что это справедливо и применительно к ограничению калорийности рациона у человека, т.е. такая диета или прием имитирующих ее препаратов могут оказаться неплохим способом застраховаться от неизвестной врожденной уязвимости. Поэтому я всемерно поддерживаю работу тех биogerонтологов, которые стараются извлечь максимум на этом пути продления жизни.

Под занавес давайте все же вернемся к теме этой главы. Некогда старение было поистине таинственным явлением, но это время ушло. Теперь мы можем рассуждать о старении человеческого организма в том же духе и с той же уверенностью, что о старении и дряхлении простых машин. Мы знаем, почему различные организмы стареют с разной скоростью, обусловлено ли это различиями в генах или в условиях окружающей среды. Мы знаем, что в войне со старением наши гены – это наши союзники, а не враги, они существуют, чтобы отсрочить старение, а не вызвать его, и стареем мы лишь потому, что генетические механизмы жизнеобеспечения несовершенны.

Ну, теперь можете ли вы, положив руку на сердце, продолжать считать, что старение слишком загадочно, чтобы в него вмешиваться? Возможно, вы, еще упорствуя в своем “священном ужасе” перед старением, хватаетесь за последнюю соломинку: думаете, что все дело в подробностях, которые я не представил. Эту соломинку я сломаю в главе 4.

4

Инженерное омоложение



☞ ДАВАЙТЕ КОРОТКО РЕЗЮМИРУЕМ ТО, о чем я до сих пор рассказал. Если в двух словах, то говорилось следующее:

- Стареть плохо, как бы мы не старались забыть об этом.
- Старение – не тайна за семью печатями, его возможно существенно отсрочить, по крайней мере, в экспериментах на животных.
- Однако методы, позволившие достичь этого в лабораторных условиях, не представляются перспективными для человека.

В данной главе я собираюсь подробнее поговорить о “моменте истины”, упомянутом в главе 1. Я раскрою – в общих чертах, но все же с некоторыми подробностями – в чем состоят различные связанные со старением нарушения на молекулярном и клеточном уровне, а также дам представление о том, как, на мой взгляд, можно с ними справиться.

☞ Предостережение: почему обычно лучше профилактика, чем лечение

В главе 3 я рассказал о двух вдохновляющих моментах в отношении борьбы со старением: во-первых, что она в принципе ничем не отличается от борьбы со старением созданных человеком машин вроде автомобилей и, во-вторых, что обнаружен способ существенно отсрочить старение в экспериментах на животных. Но я объяснил также, что второе из этих радостных обстоятельств приносит лишь очень ограниченную биологическую пользу. Ну, держитесь, теперь я поведаю о том, что и первое из них не так просто, как кажется.

Начну с несколько более печальной мысли об автомобилях. Почему так мало машин, “живущих” дольше заложенного в их конструкции срока службы, хотя вроде бы каждую возможно держать в функциональном состоянии очень долго?

На этот вопрос есть два ответа. Один из них совершенно неприменим к аналогии со старением человека, но другой вполне пригоден. Первый таков: потому что у владельца машины есть выбор – приобрести новую или тратить деньги и силы на поддержание старой; этот выбор зависит от степени его привязанности к “старушке”. Сдать в утиль вышедший из строя автомобиль нетрудно, но совсем другое дело, когда речь идет о живом человеке, скажем, о состарившейся и утратившей трудоспособность матери, тем более, если есть средства лечения, пусть и дорогостоящие.

Второй ответ: потому что большинство владельцев автомобилей откладывают серьезный ремонт до тех пор, пока не становится слишком поздно что-либо починить. Ясно, что чем больше машина повреждена, тем больше работы потребуется на починку и тем более изощренные методы придется применять. Когда автомобиль уже при последнем издыхании, для восстановления его до полностью функционального состояния нужны значительные мероприятия, например, полная замена каких-то частей. И, в отличие от первого ответа, тут аналогия с человеком полная. Об этом лучше всего известно не тем, кто изучает старение как биологическое явление, а тем, кто *лечит* стариков – врачам-гериатрам. Медики пытаются помочь людям, у которых старение привело к заметному нарушению физической и умственной деятельности. Они делают все, что в их силах и что позволяют средства современной медицины, чтобы задержать дальнейшее одряхление и отсрочить неизбежную смерть. Но им, да и вам, понятно, что это проигранная битва. Когда нарушение уже вышло из-под контроля, оно усугубляет само себя, ускоряя наступление других нарушений, которые становятся все многочисленнее и разнообразнее. Все, на что могут надеяться гериатры, – это некоторое улучшение качества жизни в последние ее годы и небольшая, порядка месяцев, отсрочка смерти. Здесь действует старое правило: профилактика лучше лечения – лучше предупреждать болезнь, чем лечить.

☞ Но только обычно...

Но не будем ставить на этом точку. Кое в чем гериатры переплюнули геронтологов, я уже намекал на это: гериатрия использует уже имеющиеся медицинские технологии. Почему они могут, а геронтологи – нет?

Не надо долго думать, чтобы ответить. Для ликвидации уже существующей проблемы необязательно знать, как она возникла. Работнику автосерви-

са, чинящему автомобиль, все равно, какая–такая ржа проела топливопровод или каких размеров был камень, разбивший ветровое стекло – вышедшую из строя деталь надо заменить и все. Аналогично врачу–гериатру нет нужды разбираться в свободнорадикальных процессах или обмене холестерина, чтобы лечить сердечно–сосудистые заболевания или диабет. А вот для *предотвращения* коррозии или повреждений ветрового стекла требуется тщательный анализ побочных эффектов плохой уборки проезжей части дорог и посыпания ее солью; точно так же геронтологам для того, чтобы на практике следовать принципу “профилактика лучше лечения” нужно много знать о тонких и скрытых причинно–следственных связях в обмене веществ.

Таким образом, перед нами два альтернативных подхода к отсрочке старения – профилактический и терапевтический; и в том, и в другом я вижу существенные недостатки, делающие их малоперспективными; притом их достоинства и недостатки *не перекрываются*: профилактика – дело быстрое, но сложное, а лечение связанных со старением болезней пусть и не столь сложно, но чаще всего опаздывает. И что же из всего этого следует – по какому пути надо идти?

☞ Из двух зол худшее или лучшее?

Вот что это сказало мне тем ранним утром в Калифорнии.

Накануне споры за круглым столом шли вокруг различных теорий старения, об аргументах в их пользу или опровержение. В основном обсуждались многообразные цепи метаболических реакций, которые могут давать вклад в развитие возрастных нарушений. Я говорил о том, что многие патологические изменения, связанные со старением, коренятся в образовании свободных радикалов в клеточных органеллах, называемых митохондриями, которые играют роль энергетических станций, где энергия, извлеченная из пищи превращается в форму, непосредственно используемую клетками– аденозинтрифосфат (АТФ). Того же мнения придерживалось и большинство моих коллег, но я по–новому представил эту точку зрения, что позволяло охватить некоторые до того необъясненные факты. Я был уверен в своей гипотезе, поскольку в то время занимался именно этой областью геронтологии (за монографию на данную тему¹ я удостоился докторской степени). Впрочем, важнее другое – моя гипотеза предполагала медико–биологический подход к основной, как мне тогда казалось причине старения: путем сложной, но реальной генетической терапии можно разорвать связь между возникновением свободных радикалов в митохондриях и развитием патологических изменений, *не вмешиваясь* в нормальные митохондриальные процессы энергообразования (об этом я расскажу ниже, а также в главе 6).

Я пришел к выводу, что в лучшем случае моя идея митохондриальной генотерапии могла бы (я подчеркиваю, *могла бы*) у человека также на 50% замедлить старение, обусловленное большинством *других* причин. Это было бы значительным прорывом и дало бы не меньшее продление здорового периода жизни, чем самое строгое ограничение калорийности рациона (по наиболее оптимистическим прогнозам сторонников этой стратегии), но без его побочных эффектов. Но я был не очень уверен в этой оценке, и тогда, на рассвете, в гостиничном одиночестве, моя уверенность была еще меньше обычного, потому что весь предыдущий день я только и слышал, какое множество нарушений возникает в организме при старении. Многие из них можно было бы, по меньшей мере, частично, отнести на счет негативных эффектов незаметно нарастающего при старении *оксидативного стресса*, т.е. нарушения равновесия между донорами и акцепторами электронов (доноры – химические вещества, способные отдать электрон, акцепторы – те, которым он нужен). Как я полагал, митохондриальная генотерапия может практически прекратить нарастание оксидативного стресса, но оставалось неясным, насколько все остальные процессы старения останутся в силе без дополнительной прицельной терапии, какой бы она ни была.

На роль этих “всех остальных” процессов кандидатов немало:

- важные для иммунной системы ферменты, участвующие в воспалительной реакции, могут также окислять холестерин (особенно при его избытке в организме), способствуя образованию атеросклеротических бляшек;
- из-за того, что основным “топливом” в организме служит глюкоза, источником которой являются углеводы пищи, велика вероятность гликозилирования клеточных белков, которые в результате как бы склеиваются;
- в результате аномальных превращений нормального белка–предшественника в мозгу образуются скопления белка бета–амилоида, что характерно для болезни Альцгеймера;
- при каждом делении клетки несколько укорачиваются *теломеры* – защитные структуры двойной спирали ДНК, играющие такую же роль, как пластиковые или металлические наконечники на концах шнурков, не давая “размахриться” хромосомам;
- при синтезе новых молекул ДНК для деления клетки механизм копирования совершает “опечатки”, выливающиеся в мутации, которые остаются в генотипе;

- использование запасов стволовых клеток (неспециализированных клеток, которые могут превращаться в те или иные нужные организму специализированные клетки, например для восстановления тканей после болезни или травмы) на протяжении жизни постепенно истощает ограниченные в масштабах жизненного срока возможности клеточного обновления.

Проблема держала меня мертвой хваткой – это не было лишь любопытством, дремавшим от безнадежности. В то время, как для многих моих коллег биogerонтология состоит в изучении феномена старения ради понимания, я относился к нему, как к вопиющему общечеловеческому злу, каждый день, каждый час уносящему тысячи жизней. Отказавшись от первоначально избранной карьеры в области изучения искусственного интеллекта, я посвятил свою жизнь не тому, чтобы лишь снизить заболеваемость и смертность от связанных со старением болезней, а тому, чтобы положить конец всему этому ужасу. Я взялся за ликвидацию старения “как класса” путем инженерии пренебрежимого старения; эта цель была сформулирована мною в тезисах диссертации на соискание степени доктора философии.

Но тем утром мой внутренний диалог привел к разочарованию и даже к отчаянию. Ясно, что если для медицинского контроля над ходом старения на деле нужна коррекция *всех* потенциально опасных метаболических процессов, да еще в каждом случае индивидуально, то развитие борьбы со старением будет подобно схватке с гидрой: сколько бы голов ни удалось отсечь, их место займут новые, еще более многочисленные. Нормальный метаболизм представляет собой столь сложное тонко сбалансированное переплетение химических реакций, что, затронув какой-то один процесс, неизбежно вызовешь изменения во всей сети, создавая новые осложнения или сводя на нет достигнутый эффект противодействием стабилизирующих механизмов. Например, хроническое воспаление ведет к клеточным нарушениям и повреждениям, но вмешательство в воспалительную реакцию может расстроить иммунную защиту от патогенных агентов. Также свободные радикалы (побочный продукт нормального обмена веществ) вызывают оксидативный стресс и со временем повреждение тканей. Но если для защиты от свободных радикалов искусственным образом активировать антиоксиданты, это поможет раковым клеткам защищаться от химиотерапевтических препаратов.

Фактически, этот процесс динамической метаболической стабилизации и регулировки и наблюдается при старении. Есть ряд связанных со старением изменений, которые могут иметь патологические последствия, но сами как таковые нарушениями/повреждениями не являются. Иначе говоря, они не накапливаются в клетках и тканях организма, а скорее представ-

ляют собой сдвиг равновесия между образованием и разрушением задействованных веществ. Мне казалось вероятным, что такие изменения, хотя и вредные для жизнедеятельности, вторичны по отношению к чему-то еще. И, если выявить и исправить это “что-то еще”, то тем самым удастся купировать и вредные вторичные изменения, делая спорным вопрос об их вкладе в процесс старения. Например, способность клеток реагировать на многие гормоны и другие сигнальные вещества имеет тенденцию ослабевать с возрастом. Но, как мы видели в главе 3, это ослабление, по-видимому, не запрограммировано в организме, что диктуется логикой эволюции. Значит, оно должно быть вторичным относительно некоторого нарушения. Может быть, клеточные мембраны утрачивают текучесть, из-за чего нарушается способность рецепторных молекул изменять свою форму, что необходимо для передачи сигнала. Или, может быть, нарушается механизм образования рецепторов. Как бы то ни было, идентификация этого нарушения сузит область поисков его непосредственных причин как источника старения.

Задумаемся еще вот о чем. Мне виделось гораздо меньше типов нарушений, чем причин, их вызывающих. Например, существует множество различных мутагенов и “предмутационных” изменений ДНК, но лишь два типа мутаций – хромосомные и митохондриальные.

“Ну, – размышлял я, – надо сообразить, сколько существует типов связанных со старением нарушений? И есть ли перспективные ловушки для остальных?”

Как я уже говорил, есть хромосомные мутации. Нарушения этого типа вызывают рак. У меня не было (тогда, но не теперь – см. главу 12) в запасе никаких свежих предложений на этот счет, и ничего не оставалось, как положиться (хотя бы временно) на чужие идеи. Впрочем, недостатка в идеях не было, ведь изучение рака – одна из обширнейших областей медицинской биологии.

Какие *другие* проблемы могут возникнуть из-за мутаций в ядре? Было общепринятым, что эти мутации – основная причина возрастных дисфункций на клеточном уровне. Но я уже какое-то время прикидывал в уме возражения, будучи уверен, что мутации, не имеющие отношения к раку, не влияют и на старение (в пределах нормальной продолжительности жизни). Конечно, “нераковая” мутация в отдельно взятой клетке может негативно повлиять на функционирование этой конкретной клетки, но возможно ли, чтобы она существенно нарушила деятельность всей ткани? Разумеется, если каждая клетка данной ткани начинает функционировать аномально, это подпортит здоровье индивида – но так быть не может. Почему? Да потому, что, если бы средняя клетка легко “подцепляла” мутацию, то к периоду зрелости организм был бы весь насквозь поражен раком, тем более что для возникно-

вения угрожающей жизни опухоли достаточно одной–единственной злокачественной клетки. Из этого следовало, что у человека на пятом десятке лет жизни и позже почти все клетки генетически здоровы, и подавляющее большинство клеток остаются такими до конца “нормального” срока жизни.

Другими словами для предотвращения смерти от рака прежде вступления в период половой зрелости механизмы поддержания ДНК действуют достаточно эффективно, так что мутации, не имеющие отношения к раку, не происходят столь часто, чтобы это имело значение. Еще лучше: та же логика, по–видимому, годится для эпимутаций (как их назвал биogerонтолог Робин Холлидей) – изменений не в нуклеотидной последовательности ДНК, а в структуре отдельных оснований или белков, на которые в норме накручена двойная спираль ДНК. Эпимутации могут быть очень вредными, так как они влияют на скорость транскрипции генов для синтеза белков. Как и истинные мутации, эпимутации могут приводить к раку либо к другим расстройствам; в их отношении рак тоже наиболее значительная проблема. Подробнее я расскажу об этом в главе 12.

Помимо мутаций в хромосомах, происходят мутации в митохондриях, что, возможно, является основным в эффекте свободных радикалов. В митохондриях (в отличие от прочих клеточных органелл) имеется собственная, независимая от ядерной ДНК. “К счастью, – подумалось мне, – я уже знаю, как справиться с митохондриальными мутациями.” Моя идея на этот счет в корне отличалась от предложений других исследователей и, как мне казалось, обладала большим потенциалом. Я не рассчитывал на усиление антиоксидантной защиты, которую берут на вооружение не только те, кто делает деньги на витаминах, но и некоторые биотехнологические компании. (И это при том, что биogerонтологи давным–давно пришли к выводу: использование антиоксидантов – тупик, поскольку, как неоднократно было показано, они ничуть не влияют на старение². Трудно найти лучшую иллюстрацию того, что наше двойственное отношение к старению пока поверхностно. Свободные радикалы слишком реакционноспособны, чтобы с ними можно было разделаться с помощью витаминов или даже недавно разработанных препаратов, представляющих собой синтетические аналоги антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (например, MnTBAP, EUK–134). Кроме того, свободные радикалы могут быть нужны организму; не так давно выяснилось, что при излишней их ликвидации возникают новые нарушения. За миллионы лет эволюции выработалась способность использовать высокую химическую активность свободных радикалов для молекулярной сигнализации,³ поэтому чрезмерное подавление их воздействия на клетки вредно влияет на клеточный метаболизм. При дополнительном потреблении антиоксидантов организм

даже может компенсировать их избыток сдерживанием собственных антиоксидантных механизмов.

Многие мои коллеги предпринимали попытки сократить образование свободных радикалов, считая это наилучшим способом замедлить развитие связанных со старением нарушений. Но (по вышеупомянутой причине) на деле мудрено достигнуть этого, не нарушая существенно механизмов жизнеобеспечения организма. Кроме того, свободные радикалы образуются в основном в митохондриях в процессе синтеза АТФ за счет извлекаемой из пищи энергии, и какие бы то ни было, воздействия на этот центральный аспект обмена веществ неизбежно породят побочные эффекты.

Как отмечалось несколькими абзацами выше, я уже предлагал обойти этот проблематичный подход путем, который подробно освещается в главе 6. Кратко, идея состоит в следующем. Надо дать обмену веществ протекать, как в норме, – мирясь с тем, что будет образовываться некоторое количество свободных радикалов и будут иметь место некоторые молекулярные повреждения, – но разорвать связь между свободными радикалами и оксидативным стрессом. В тезисах к своей диссертации на соискание степени доктора философии я утверждал, что (в противоположность общепринятому тогда мнению) митохондриальные свободные радикалы не дают вклада в системное усиление оксидативного стресса с возрастом путем *непосредственного* повреждения остальной части (вне митохондрий) клетки, но повреждая митохондриальную ДНК, вызывают неадекватное состояние митохондрий, из-за которого оксидативный стресс распространяется за пределы клетки. Из этого я заключал, что проблема митохондриальных мутаций может быть решена путем переноса копий митохондриальной ДНК из их уязвимого местонахождения в “эпицентре” образования свободных радикалов в гораздо лучше защищенное от свободно-радикальных бомбардировок клеточное ядро, где повреждения ДНК случаются значительно реже. Белки, закодированные в митохондриальной ДНК, тогда должны синтезироваться таким образом, чтобы они могли бы транспортироваться в митохондрии, но казалось понятным, как этого добиться. Находящиеся в ядре копии митохондриальной ДНК должны служить как дублиеры ДНК, находящейся в митохондриях; митохондрии функционировали бы нормально, даже если содержащаяся в них ДНК повреждена, так что не развивались бы долгосрочные вредные последствия для организма в целом. В митохондриях возникали бы повреждения/нарушения, но они не переходили бы в упомянутое неадекватное состояние, и разрушительный оксидативный стресс не расплзался бы по организму.

Отлично, две проблемы (хромосомные и митохондриальные мутации) долой, сколько осталось? Возьмемся за *гликозилирование* белков (присое-

динение к ним глюкозы). Эта проблема представлялась относительно несложной, так как было известно, что биотехнологическое предприятие Alteon уже вело клинические испытания препарата под названием ALT-711, который, судя по всему, обращал глюкозную шивку белков. Положительный эффект здесь, пусть и слабый, имел очень большое значение: ALT-711 обладал некоторой (ограниченной) способностью восстанавливать эластичность сердца и кровеносных сосудов, теряемую с возрастом из-за гликозилирования белков, а также помогал при диабетической нефропатии. Действие этого лекарства доказывало сам принцип воздействия: без вмешательства в метаболизм глюкозы, невзирая на продолжающееся образование шивок в белковых молекулах, удастся предупредить его патологические последствия путем *ликвидации* нарушения *post factum*. (Как вы увидите далее, это важная основная мысль: не вмешивайтесь в процесс, а ликвидируйте вызванные им нарушения.) Более подробно проблема гликозилирования обсуждается в главе 9.

Что еще? Различного рода “мусор”, накапливающийся вне клеток: бета-амилоид, менее изученный транстиретин и, возможно, другие подобные вещества. Здесь опять-таки имеются успехи в “частном секторе”. Сотрудники компании Elan (шт. Калифорния, США) продемонстрировали активную *ликвидацию* проблемы: мышам вводили вакцину против амилоидных бляшек, благодаря чему они уничтожались силами иммунной системы организма. В лабораторных экспериментах этот подход принес быстрый успех, так что недалеко было и до клинических испытаний. Если хотите узнать подробнее, читайте главу 8.

Нужно также обсудить вредные накопления *внутри* клетки (липофусцин и т.п.). Тут я заволновался, потому что годом ранее, а именно в июне 1999 г. в Дрездене, я узнал о возможности ликвидации таких накоплений при помощи ферментов почвенных бактерий. (Типичный случай совершенно неспециалистом объединения достижений из далеких друг от друга областей, создающего новый подход к решению проблемы. В современном научном прогрессе это ключевой элемент, который, увы, недооценивался во многих отраслях медицины и биологии.) Идея использования почвенных бактерий для разрушения “долгоживущих” органических субстратов не нова, но не в геронтологии и даже вообще не в медицинской биологии. Она предлагалась для очистки окружающей среды и известна под названием биоремедиации (биооздоровления). Среди геронтологов никто о ней и не слышал, не говоря уж о ее медико-биологическом применении. Если вы заинтригованы, посмотрите в главу 7.

К списку проявлений физиологического старения на клеточном уровне необходимо добавить *старение самих клеток*. Физиологическим старением

(англ., *senescence*) на клеточном уровне называют состояние, когда клеточный рост останавливается и клетка начинает производить химические сигналы, опасные для ее окружения. Теоретически, по меньшей мере, есть различные способы справиться с клеточным старением, хотя у меня нет уверенности относительно результативности того или иного из них. В стареющих клетках на поверхности образуются специфические белки, которые делают их мишенью для избирательного разрушения. Если выявить разрушение/повреждение или сдвиг в экспрессии генов, закрепляющие такое состояние клетки, то можно попытаться вернуть стареющую клетку к нормальному функционированию. Несмотря на всю спекулятивность этого подхода Джуди Кампизи в Калифорнийском университете в Беркли и другие исследователи с энтузиазмом “взяли след”, о чем рассказывается в главе 11.

Еще существенно *истощение запасов* неделящихся клеток, а именно сердечных и нервных, которые, погибнув, в норме не заменяются новыми, а также парадоксальное истощение ресурсов стволовых клеток, необходимых для заживления повреждений и поддержания структуры тканей. Всякому, кто читал газеты за последние годы, известно, что ведутся интенсивные научные исследования возможностей компенсации связанной с возрастом потери клеток, в том числе с помощью стволовых клеток. Так, в качестве омолаживающей терапии предлагалось введение в организм культивированных стволовых клеток; тут имеется несколько различных перспективных подходов, рассчитанных на разные условия. Один из них состоит в том, что у человека берут взрослые стволовые клетки, размножают их вне организма и затем вводят обратно. Другой подход предполагает сбор эмбриональных стволовых клеток (которые более универсальны, чем взрослые) из плодных тканей, извлекаемых при абортах. Наиболее сложный метод –перенос ядра: уже немолодые специализированные клетки превращают в юные плюрипотентные стволовые клетки, сливая их с яйцеклетками с помощью электрического импульса. В опытах на животных показано, что такие клетки можно использовать для лечения заболеваний и травм, связанных со старением, и есть все основания ожидать, что те же методы, разве что усовершенствованные, могли бы послужить для восполнения клеток, теряемых из-за связанного со старением упадка.

Что еще? Э–э–э...

Больше никаких категорий нарушений мне в голову не приходило! Как я ни старался, ничего не мог придумать. Была еще пара других примеров молекулярных изменений, накапливающихся на протяжении жизни, но у меня были причины считать их из той же компании, что и не вызывающие рака мутации: эти изменения были бы вредными, живи человек сотни лет, но при нормальной продолжительности жизни они, вероятнее всего, не вредны. Кроме этого все, что я узнал за пять лет изучения и обсужде-

ния, было, вроде бы, охвачено.⁴

На минутку я вернулся назад и четко сформулировал свои логические построения, которым предавался несколько часов. Исходно я ставил простой вопрос: если гериатрия терпит фиаско, поскольку профилактика лучше лечения, а геронтология – потому что наши знания о механизмах обмена веществ очень ограничены, то не лучшей ли окажется третья, промежуточная цель? Возможно, ли ликвидировать нарушение, когда оно уже возникло (тем самым, избегая необходимости знать точный механизм его возникновения), но прежде, чем оно выйдет из-под контроля (тем самым, избегая проигрышной ситуации, в которой находится гериатрия)? См. **рисунок 1**.

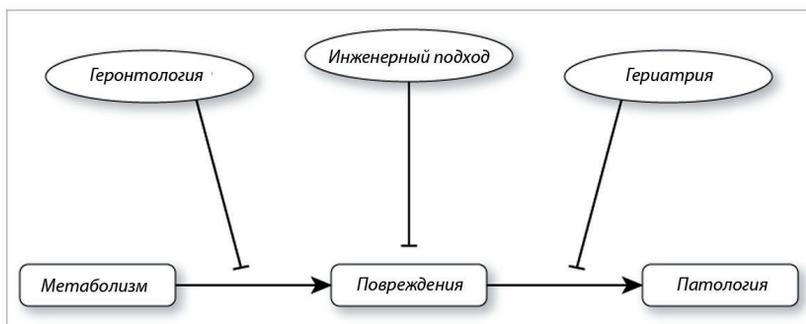


Рисунок 1 Зародившийся в июне 2000 г. инженерный подход создает третий, промежуточный между геронтологическим и гериатрическим, путь борьбы со старением

На этот вопрос я смогу ответить утвердительно, сформулировав дерзкий постулат: эти промежуточные цели, эти ближайшие побочные эффекты обмена веществ, накапливающиеся в организме на протяжении его жизни, *все* либо а) не имеют отношения к старческим патологиям (так, по-моему, можно исключить мутации, не вызывающие рак), либо б) могут быть ликвидированы или обезврежены существующими или ожидаемыми в ближайшем будущем методами. Если же, при том, что некоторые из них можно ликвидировать, а некоторые определенно безвредны или могут быть обезврежены, найдутся такие, которые ни к первым, ни ко вторым не относятся, то моя идея не сработает. Как у любой машины, крепость живого организма определяется его слабым звеном, поэтому частичные меры лишь незначительно (либо вообще не) повлияют на продолжительность жизни.

Просматривая свой список снова и снова, я проникался уверенностью, что из него нет явных исключений. Получился действительно исчерпывающий перечень, сочетавший мою идею о ликвидации внутриклеточного “мусора” (ко-

торую я отстаивал в течение многих лет) для обезвреживания митохондриальных мутаций и различные другие методы, разрабатываемые другими учеными во всем мире применительно к гликозилированию, накоплению амилоида, потере клеток, клеточному старению и раку... На **рисунке 2** представлено перечисление проблем и их решений, составляющих план SENS (стратегий инженерного пренебрежимого старения), как он выглядит сегодня.

Как отмечалось выше, когда (и если) будут решены все эти проблемы и люди станут жить значительно дольше, могут возникнуть и другие проблемы. Тем не менее, мой список, по-видимому, вполне достаточен, чтобы обеспечить продление жизни на несколько десятков лет людям среднего возраста. И это гораздо более многообещающее начало по сравнению со всем, что мне за последние годы приходилось обсуждать с коллегами, читать на страницах научных журналов, слышать на конференциях и симпозиумах.

Рисунок 2: Семь составных частей SENS

Нарушение / Повреждение	Как ликвидировать или обезвредить	Подробности см. в главе
Потеря и атрофия клеток	Клеточная терапия	11
Внеклеточный “мусор”	Стимуляция иммунной системы для фагоцитоза	8
Внеклеточные шивки	Агенты, разрушающие шивки (ферменты и др.)	9
Бессмертные клетки	Гены апоптоза, стимуляция иммунной системы	10
Мутации митохондриальной ДНК	Аллопатическая экспрессия митохондриальных белков	5,6
Внутриклеточный “мусор”	Трансгенные микробные ферменты	7
Эпимутации в ядре (канцерогенные)	Делеция гена теломеразы/ ALT и введение стволовых клеток	12

Над Калифорнией поднималось солнце, и вместе с ним – мое настроение. Было очевидно, что для реального спасения жизни, т.е. для практического применения методов, перечисленных в таблице на рисунке 2, придется преодолеть немало технических сложностей. Но все равно я чувствовал, что мой ход мыслей может революционизировать биogerонтологию и со временем, надеюсь, будущее человечества. Ликвидация накапливающихся нарушений, восстановление поврежденных структур и механизмов (или, в случае мутаций митохондриальной ДНК, их избегание) – это наилучший “третий путь” между геронтологическим и гериатрическим подходами. В нем используется слабое звено в цепи событий, ведущей от метаболических изменений к патологическим – стадия старения достаточно ранняя, чтобы исключалось нисходящее развитие, из-за которого гериатрический подход априори бесперспективен, но достаточно поздняя, чтобы не вникать в сложности метаболизма, из-за которых бесперспективен превентивный геронтологический подход.

Эта концепция была бы с легкостью воспринята моими прежними коллегами – компьютерщиками, да и большинством инженеров. В инженерном деле вполне *обычно* разрабатывать технологию прежде достижения полного теоретического понимания лежащих в ее основе физических явлений и процессов. Инженеры на практике использовали электричество, сверхпроводимость и даже ядерную энергию (в виде бомбы) задолго до того, как получили связанное теоретическое объяснение взятых на вооружение сил природы. В медицине и то не редкость, когда эффективное применение средств лечения намного опережает представление о механизме их действия. Салицилаты из ивовой коры уже не одну сотню лет используются как противовоспалительное средство, а не так давно сотрудник фирмы Bayer Феликс Хоффман сумел модифицировать природные соединения так, что они стали приятными на вкус и менее раздражающими для желудка. Однако на молекулярном уровне действие нового чудесного лекарства (аспирина) стало понятным лишь 70 лет спустя. Конечно, когда молекулярные механизмы лекарственного воздействия – ключевые ферменты, гены и проч. – известны, открываются возможности создания более эффективных препаратов, но такой уровень знаний *не* является необходимым для того, чтобы *начать* разработку эффективного лечения.

Вот так переориентироваться – головокружительно. Но, приняв новую точку зрения, вы, я уверен, увидите реальность всего плана и путь вперед станет ясен. Вы прекратите считать старение сложной нерешаемой *теоретической* проблемой и включитесь в лобовую атаку – решение *инженерной задачи*. Формулировка “инженерное пренебрежимо малое старение”, которую я небрежно употребил экспромтом, вдруг явила себя наиболее точным из возможных описаний предстоящей задачи.⁵

Собственно, о борьбе со старением можно рассуждать, как до меня дошло, в терминах, аналогичных тому, как говорят о предотвращении старения других физических систем – зданий или автомобилей. Как сказано в главе 2, почти все живые организмы в силу закономерностей эволюции не способны жить неограниченно долго, не старея: мутации в генах, обеспечивающих нестарение, не уничтожались бы путем отбора при гибели нестареющего индивида через какое-то время от нападения хищника или иных обстоятельств. Аналогично, автомобили конструируются так, чтобы удовлетворять противоречащим друг другу требованиям – долгой службы, с одной стороны, и не слишком высокой стоимости, с другой; в результате достигается устраивающий потребителя компромиссный вариант. Таким образом, человеческий организм, как и созданные людьми машины, сконструирован так, чтобы выживать в течение какого-то биологического “гарантированного срока”: он обладает достаточной прочностью и способностью к саморемонту, чтобы функционировать наилучшим образом столько времени, сколько реально возможно выжить в условиях дикой природы, но не более того.

Но, конечно, у самого обладателя автомобиля – или человеческого тела – могут быть совсем другие приоритеты, нежели у автомобильных компаний или “эгоистичных” генов. Владелец машины, который хочет, чтобы она служила намного дольше, чем обычно имеют в виду производители дешевых автомобилей, может поступить двояко. Можно просто приобрести модель получше, скажем, Volvo вместо Chevy Cavalier. Этот подход, конечно, неприменим к человеку, располагающему лишь теми генами, с которыми появился на свет. Да и Volvo в конце концов ломается, хотя и на несколько лет позже более дешевой марки.

Поэтому, если нужно удержать автомобиль на ходу дольше отпущенного ему срока службы, выбирается другой подход – *текущая починка* и замена того, что ломается. Будь то бедный трудяга, вынужденный поддерживать жизнь в своем стареньком “запорожце”, потому что на другую машину у него уже никогда не будет денег, или богатый коллекционер, реанимирующий старинный роллс-ройс из любви к искусству – при должном уходе возможно сохранять машину “жизнеспособной” более или менее продолжительное время. При этом автомобиль не надо хранить “в ватке” – в каком-нибудь специально оборудованном гараже или заправлять какими-то новейшими суперкачественными сортами бензина. Все, что требуется – это по мере надобности чинить или заменять изношенные и сломавшиеся детали. И в этом я усматривал поразительную аналогию с человеческим организмом на всех уровнях – клеточном, тканевом, органном. О чем я и рассказываю в последующих главах.

☞ Чертовы подробности

В конце главы 3 я разъяснил цель главы 4: лишить людей последнего оправдания и далее пребывать в иллюзиях о старении, считая, что мой энтузиазм по поводу совершившегося в последнее время перехода от священного ужаса перед загадочным явлением к реальной борьбе с ним, – это лишь слова, не имеющие под собой никакой серьёзной основы. Надеюсь, мне удалось достичь своей цели, хотя я не первый раз пытаюсь сокрушить эти иллюзии и знаю, что они порой весьма устойчивы.

Вот почему большая часть остальных глав книги отведена кропотливому описанию научных данных, касающихся семи категорий SENS и соответствующих терапевтических средств. Поскольку читать эту книгу будут в основном люди, не имеющие профессионального отношения к науке, такой подробный экскурс может испугать читателя. Но Майкл Рей очень тщательно работал над второй частью книги, чтобы передний край науки предстал понятным для любого образованного неспециалиста, имеющего желание потратить время на внимательное чтение. Поэтому я призываю вас погрузиться в детали и узнать побольше о различных нарушениях и повреждениях, составляющих старение, и реально возможных методах, которые, я уверен, позволят чинить или нивелировать эти нарушения в достаточной степени, чтобы навсегда избежать связанного с возрастом физического и умственного упадка.

ЧАСТЬ ВТОРАЯ



Развал клеточной энергетики

Клеточные органеллы, называемые митохондриями, играют большую роль в старении в связи с действием высоко реакционноспособных химических соединений – свободных радикалов. Когда я только начинал заниматься ролью митохондрий в старении, в середине 1990-х годов, она еще не была четко определена: данные и их интерпретации были противоречивы, единого понимания фактического материала еще не существовало. В этой ситуации я разработал ныне многими поддерживаемую теорию старения, ставящую во главу угла митохондриальные эффекты свободных радикалов. Продолжайте чтение: чтобы понять старение, нужно немного разобраться в том, как устроена и функционирует живая клетка



В ГЛАВЕ 4 ГОВОРИЛОСЬ, ЧТО есть семь основных категорий накапливающихся в течение жизни нарушений/повреждений, на которых и следует сосредоточиться, если ставить себе целью разобщить их причины (процессы жизнедеятельности) и последствия (в конечном счете связанные со старением патологические изменения), тем самым предотвращая эти последствия. Шесть из семи категорий обсуждаются в главах 7–12, каждая из которых посвящена одной из этих категорий. Но одна категория, а именно мутации митохондриальной ДНК, выбранная мною быть первой, занимает две главы, потому что вопрос о роли этих мутаций в старении (имеют ли они вообще значение) на самом деле далеко не прост и для поиска ответа на него надо приложить все силы, чтобы знать, следует ли вообще ими заниматься. Вспомните: в главе 4 я кратко заметил, что SENS не включа-

ет в себя рассмотрение мутаций в клеточном ядре, если только они не вызывают рак, поскольку неканцерогенные мутации накапливаются слишком медленно, чтобы иметь значение в пределах нормальной продолжительности жизни (подробнее я поговорю об этом в главе 12). Многие геронтологи думают так о мутациях в митохондриях. Я с ними не согласен, и нужно объяснить, почему. Что касается остальных шести категорий SENS, то на их счет разногласий нет: каждая из них явно вызывает или ускоряет по меньшей мере одно из основных патологических изменений, связанных со старением. Потому этим категориям отведено по одной главе, в которой основное внимание уделено решению проблемы, а почему данная проблема существует, рассказывается довольно кратко.

☞ Свободные радикалы: краткое введение

В наши дни о *свободных радикалах* почти каждый хотя бы слышал. Об их участии в старении так часто и с такой уверенностью говорят в прессе, особенно в материалах, пропагандирующих новейшие “антиоксидантные” пищевые добавки, что можно подумать, будто тема изучена и исчерпана. Однако, как мы увидим, роль свободных радикалов в процессе старения – и наилучшие подходы к обусловленным ими проблемам – гораздо сложнее и противоречивее, нежели можно судить по этим публикациям.

Свободными радикалами в биологии называют в основном¹ содержащие кислород молекулы, в которых недостает одного *электрона*. Электроны – это отрицательно заряженные элементарные частицы, образующие вокруг ядра атома оболочку специфической для атомов данного элемента структуры, в которой каждый электрон занимает свою так называемую *орбиталь* (в некотором приближении ее можно считать определенным расстоянием от ядра). Молекула химически стабильна только тогда, когда на каждой орбитали имеется пара электронов; орбиталь с одним электроном нестабильна. Поэтому, если молекула *теряет* один из парных электронов, она становится химически реакционноспособной до тех пор, пока не вернет себе недостающий электрон. Обычно свободный радикал обретает стабильность, отняв электрон у ближайшей доступной молекулы, имеющей все положенные электроны. Однако, лишившись электрона, эта прежде стабильная молекула *в свою очередь* становится нестабильной и стремится достичь равновесия с помощью чужого электрона. Получается цепная реакция.

Некоторые необычные вещества, называемые антиоксидантами, могут положить конец этой цепочке “краж”, так как их молекулы относительно стабильны даже с неспаренным электроном. Такие вещества “тушат” свободнорадикальную цепную реакцию. Но, до тех пор, пока она не угаснет, свободные радикалы мечутся по организму, круша попавшиеся на пути биологически важные молекулы: структурные белки, образующие основу тка-

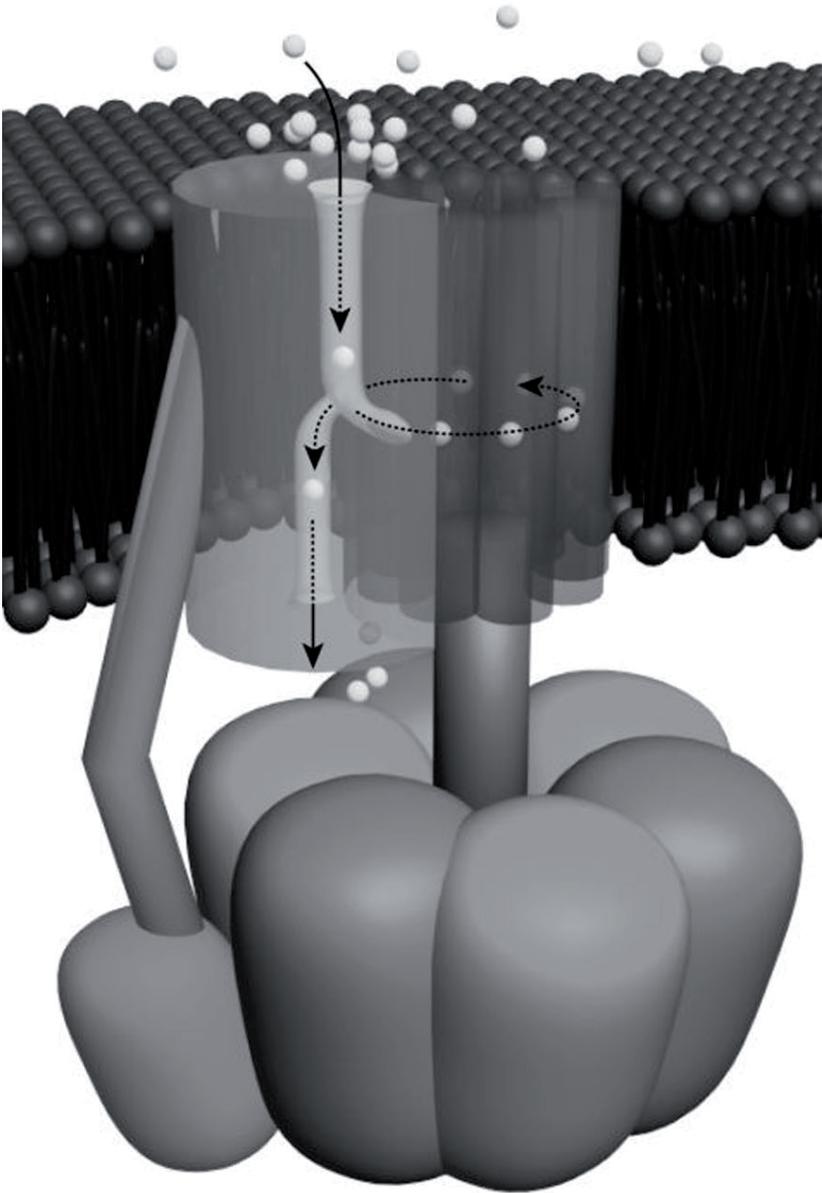
ней; липиды мембран, разделяющих внутреннее пространство клетки на функционально специализированные отделы; ДНК, кодирующую ферменты и все прочие необходимые клетке белки и т. д. В биологических объектах структура определяет функцию, так что у поврежденных, химически деформированных молекул ухудшается или исчезает их способность выполнять свою роль в обмене веществ.

Хорошего в этом мало, но тут уж ничего не поделаешь. Свободные радикалы – неизбежный элемент жизнедеятельности организма.

Под влиянием научно-популярных публикаций в широкой прессе у вас могло создаться впечатление, что источником свободных радикалов являются преимущественно химикаты, загрязняющие окружающую среду, или токсические вещества из пищи, но на самом деле большая часть действующих в организме свободных радикалов образуется в его собственных клетках, в их “энергетических станциях” – *митохондриях*. Митохондрии – это одна из разновидностей клеточных органелл, т.е. ограниченных мембраной структурированных областей внутри клетки вне ядра. В каждой клетке содержится обычно от сотен до тысяч митохондрий. Созданные человеком энергетические станции потребляют энергию в неудобной форме – в виде того или иного топлива (угля, природного газа, ядерной энергии, ветра) и превращают ее в удобную – электричество, которое вы используете, скажем, в миксере или компьютере. Аналогично, в митохондриях неудобная для использования энергия внутримолекулярных химических связей (глюкозы и других питательных веществ) превращается в более удобную форму – *аденозинтрифосфат (АТФ)*, являющийся универсальным энергоносителем для жизненно важных и всех прочих биохимических реакций, обеспечивающих жизнедеятельность клеток и организма в целом.

В митохондриях энергия генерируется наподобие того, как это происходит, например, на гидроэлектростанции, где вода крутит турбины (см. **Рисунок 1**). На предварительном этапе в результате биохимических реакций (в ходе каждой из которых генерируется небольшое количество энергии), энергия, заключенная в компонентах пищи, в форме электронов переносится на молекулы-носители, которыми служат *никотинамидадениндинуклеотид (NAD⁺)* и *флавинадениндинуклеотид (FAD⁺)*. Эти электроны приводят в действие последовательность молекулярных “насосов”, составляющих так называемую *цепь переноса электронов*, или электрон-транспортную цепь, и наполняющих “резервуары” для *протонов*, удерживаемые “плотиной” внутренней мембраны митохондрий.

Накопление протонов по одну сторону “плотины” создает электрохимическую силу, посылающую их “вниз”, на другую сторону *внутренней мито-*



(Рисунок 1) Подпись: F₀/F₁-АТРсинтаза

хондриальной мембраны – так вода падает с плотины под действием силы тяжести. И точно так же, как на гидроэлектростанции за счет энергии падающей воды крутятся турбины, поток протонов приводит в действие содержащийся во внутренней мембране митохондрий комплекс V ($F_0\backslash F_1$ АТФ-синтазу), который играет роль турбины. “Вращение турбины” комплекса V сопряжено с фосфорилированием (присоединением фосфат-ионов) молекулы-носителя, которым здесь служит *аденозиндифосфат* (ADP), превращающийся соответственно в аденозинтрифосфат (АТФ).

Однако, в отличие от гидроэлектростанции, превращение химической энергии, заключенной в компонентах пищи, в энергию, заключенную в молекулах АТФ, происходит *химическим* путем. Как и при сгорании топлива (угля или дерева), при энергообразующем превращении ADP в АТФ потребляется *кислород*. Вот почему нам необходимо дышать, чтобы жить: кислород – конечный акцептор все тех электронов, которые берутся из питательных веществ и передаются по перекачивающей протоны цепи переноса электронов. Соответственно, весь цикл называется *окислительным фосфорилированием*. Если гидроэлектростанции (обычно) не загрязняют окружающую среду, то митохондрии кое в чем больше похожи на тепловые или атомные электростанции: в результате превращений энергии в митохондриях образуются токсичные отходы. В процессе передачи электронов по цепочке протонных “насосов” от одного комплекса к другому какие-то электроны спорадически то тут, то там “уходят в аут”. Такой потерянный электрон обычно подбирается молекулой кислорода, которая в результате окисляется с лишним, неспаренным электроном. Выше отмечалось, что кислород служит конечным акцептором электронов, нормально прошедших по цепи переноса электронов, *не* потерянных; но при этом молекула кислорода получает не один электрон, а четыре и оказывается стабильной. А вот в результате присоединения *одного* электрона неопасная молекула кислорода становится особо важным свободным радикалом, называемым *супероксидом*. Образование АТФ в митохондриях идет непрерывно и сопутствующее образование супероксида тоже непрерывное, подобно постоянной слабой утечке радиоактивных отходов в действующем ядерном реакторе.

Когда выяснилось, что митохондрии являются основным *источником* свободных радикалов в организме, стало понятно, что эти органеллы должны быть и их основной *мишенью*. Свободные радикалы столь бешено реакционноспособны, что просто не могут уйти далеко от места своего появления, и будут поражать первое, что попадет на пути, так что сами митохондрии оказываются в наибольшей опасности. В митохондриях есть множество объектов, потенциально чувствительных к воздействию свободных радикалов. Образующиеся в митохондриях свободные радикалы находятся

в непосредственной близости от тех самых мембран и белков, которые участвуют в образовании АТФ, и недалеко от *митохондриальной ДНК*. “Ну, и что из этого?” – спросите вы. Да то, что белки всех прочих, немитохондриальных компонентов клетки закодированы в центральном хранилище генетической информации клетки – в ядре, а митохондрии имеют свою собственную ДНК, кодирующую 13 белков протонных насосов, производящих АТФ в митохондриальной мембране.² И если митохондриальная ДНК существенно повреждена, вся машинерия митохондрий пойдет кривь и вкось.

К сожалению, не вызывает сомнений, что митохондриальная ДНК действительно страдает от множества повреждений, вызванных внутримитохондриальными причинами. В ней в сотни раз больше, чем в ядерной ДНК, следов окислительных ударов и во много раз больше истинных стойких *мутаций*, накапливающихся с возрастом.

Начиная с опубликованной в 1972 г. классической работы Денема Хармана³ (который уже имел честь быть “отцом” свободнорадикальной теории старения) накопилось достаточно данных, позволивших ряду исследователей выдвинуть в различных вариантах “митохондриальную свободнорадикальную теорию старения. Давайте коротко рассмотрим экспериментальные данные.⁴

Прежде всего, имелись факты из области сравнительной биологии. У медленно стареющих видов по сравнению с быстро стареющими при тех же размерах и температуре тела неизменно оказывается, что свободнорадикальные повреждения митохондрий накапливаются медленнее. У них образуется меньше свободных радикалов; митохондриальные мембраны менее чувствительны к свободнорадикальному повреждению; повреждений митохондриальной ДНК накапливается меньше. Ограничение калорийности рациона – единственное известное негенетическое вмешательство, замедляющее старение у млекопитающих, – улучшает все эти показатели: ослабляется образование свободных радикалов в митохондриях, повышается устойчивость мембран к свободнорадикальной атаке, уменьшается связанное с возрастом накопление мутаций митохондриальной ДНК, необратимых потерь или “опечаток” в генетических инструкциях.

Данные об ограничении калорийности рациона подводят к тому же выводу с противоположной стороны: этот подход действительно замедляет старение, но не влияет сообразно на уровни образующихся в организме антиоксидантных ферментов. Ферменты, изученные на предмет нейтрализации образования свободных радикалов в 1980–е годы, присутствовали в клетках вне митохондрий. Это опять–таки указывает на то, что свободнорадикальный ущерб вне митохондрий не является непосредственной важной причиной старения, так как процесс старения может быть фактически за-

медлен (путем ограничения калорийности рациона) без того единственного воздействия, которое бы самым непосредственным образом воспрепятствовало этому ущербу.

Заглянем на минутку вперед, в 2005 г. В том году появилось наиболее прямое свидетельство на сей счет. В этих экспериментах мышам вводили гены, обуславливающие усиленный синтез антиоксидантного фермента (каталазы), специфически нацеленного на различные мишени в организме.^{5,6} Когда каталаза защищала ядерную ДНК (содержащую генетическую информацию, определяющую строение и метаболическую активность всей клетки за исключением того, что определяют митохондриальные гены), положительного эффекта не наблюдалось или он был лишь незначительным. Также не было эффекта и от защиты органелл, называемых пероксисомами, которые участвуют в образовании перекиси водорода (именно это вещество обезвреживает каталазу) и, соответственно, уже нагружены этим ферментом. А когда каталазу нацеливали на митохондрии, значительно ослабевало возникновение делеций в митохондриальной ДНК, а максимальная продолжительность жизни мышей увеличивалась примерно на 20%. То был первый несомненный случай генетического вмешательства, влияющего на этот ключевой параметр старения у млекопитающих.

Десять лет назад, когда я впервые обратился к вопросу об окислительном повреждении митохондрий, результаты этих исследований на мышах лишь дали бы повод появиться огоньку в глазах их авторов. Но даже тогда представлялось неопровержимым, что свободнорадикальное повреждение митохондрий является основной движущей силой старения. Вопрос в том, как одно с другим связано.

Этот вопрос может показаться глупым – ведь свободные радикалы явно токсичны. Но было очень непросто дать непротиворечивое детализированное объяснение механизма связи между свободнорадикальным ущербом и старением. Сторонники их ключевой роли в процессе старения первым аргументом выдвигают тот несомненный факт, что образующиеся в митохондриях свободные радикалы повреждают мембраны и белки, необходимые для производства АТФ, а также вызывают мутации митохондриальной ДНК, кодирующей некоторые из этих белков. Но нужно еще объяснить, как саморазрушение митохондрий приводит к *прогрессирующему системному упадку* организма, в котором и состоит его старение. До недавнего времени все предложения на этот счет ограничивались постулированием некоего митохондриального порочного круга из самоускоряющегося образования свободных радикалов и расшатывания биоэнергетических механизмов.^{7,8}

В этих спекулятивных гипотезах митохондрия предстала подобием гидроэлектростанции, в которой турбины изъедены ржавчиной, изношены или сломаны из-за постоянно действующих факторов. Вследствие свобод-

норадикального повреждения митохондриальных мембран, белков и ДНК по всему организму все хуже и хуже происходит перенос электронов и протонов в цепи синтеза АТФ, что ведет к неэффективному извлечению энергии и усилению образования свободных радикалов по мере того, как больше и больше электронов ускользает от все более и более изувеченных, все хуже и хуже работающих электрон–транспортных комплексов. Так раскручивается порочный круг: все больше и больше отбившихся от основного потока электронов портят все больше и больше компонентов митохондрий, вызывая их дальнейшую порчу, производство энергии становится все менее и менее эффективным и все более “грязным”. И т.д. и т.п., по нисходящей спирали, ведущей, в конце концов, к нехватке энергии и накоплению “мусора” в клетке. См. **рисунок 2**.

В том или ином варианте вышеописанный ход событий повторяется во всех научно–популярных публикациях о роли митохондрий в старении, да и в научных статьях тоже. Однако вот уже лет двадцать мы располагаем убедительными данными о том, что все не так.

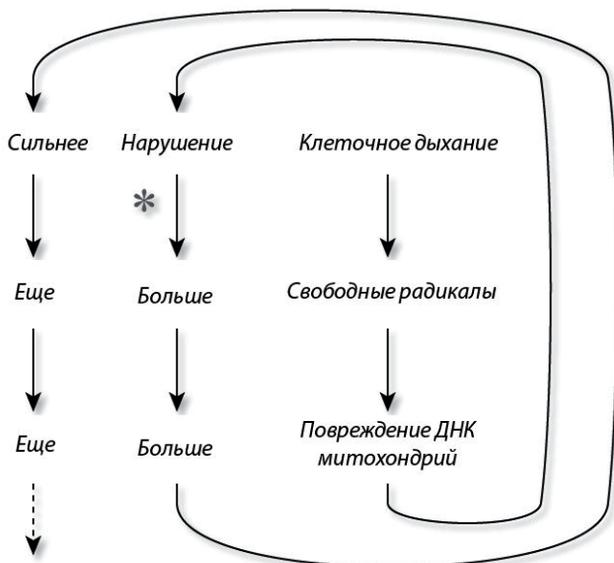


Рисунок 2. Теория порочного круга накопления мутаций митохондриальной ДНК. Ее ключевой принцип отмечен звездочкой: типичные мутации в митохондриях повышают скорость высвобождения свободных радикалов.

Теория порочного круга порчи митохондрий рисует происходящее соблазнительно правдоподобно, но она не согласуется с имеющимися данными. Немало ученых даже и посейчас не замечают вопиющей несообразности теории с фактами, лишь немногие специалисты по митохондриям и биogerонтологи говорили об этих несоответствиях начиная с середины 1990-х годов. Предсказания теории порочного круга столь сильно отличались от наблюдаемого в экспериментах, что ряд исследователей сочли за благо вообще лишить свободные радикалы роли в старении, забыв, что эта роль может осуществляться *не* посредством механизма порочного круга.

Первый недочет по меньшей мере, некоторых вариантов теории порочного круга был подмечен гораздо раньше – после того, как Харман выдвинул первоначальный вариант теории митохондриальных свободных радикалов. И сделал это не кто иной, как Алекс Камфорт (тот самый, который написал известную книгу “Радости секса”; он был поистине универсален – неординарный пропагандист анархизма, поэт и выдающийся биogerонтолог).

В 1974 г. Камфорт подметил что, хотя под влиянием постоянной атаки свободных радикалов каждая митохондрия может *временно* претерпевать нарастающее нарушение структуры и функций белков и мембран, составляющих механизм синтеза АТР, нельзя основывать теорию старения на постулате, что это нарушение усугубляется с возрастом, поскольку клетка постоянно заменяет и обновляет сами эти органеллы.

Периодически старые митохондрии отмечаются для разрушения, которое осуществляется другими органеллами, *лизосомами* (это клеточные “печи для сжигания мусора”; я подробно расскажу о них в главе 7). Чтобы компенсировать потерю “энергостанций”, клетка подает оставшимся митохондриям сигнал размножаться. В каждой митохондрии удваивается ДНК, после чего строится новое “тело”, включая новые, неповрежденные белки и мембраны насосных комплексов электрон-транспортной цепи. Независимо от возраста всего организма любая митохондрия в любой клетке содержит мембраны и белки в среднем не старше нескольких недель. И у очень юного, и у очень пожилого человека соотношение самых старых и самых новых митохондриальных компонентов примерно одинаково. Просто невозможно, чтобы старение было движимо прогрессирующей дегенерацией компонентов, если они постоянно обновляются.

Однако это возражение не составляло проблемы для более популярных вариантов теории порочного круга, предполагающих, что старение развивается из-за повреждений митохондриальной ДНК. В то время как митохондриальные мембраны и белки периодически обновляются, митохондриальная ДНК во всех митохондриях унаследована от “родительской” энер-

гопроизводящей органеллы, которая точно так же, как организм в целом передает своему потомству случившиеся в ее ДНК мутации, генетические ошибки в “родительских” митохондриях появляются у митохондрий новой генерации. Если митохондрии, ДНК которых повреждена, предпочтительно разрушаются лизосомами, то результатом будет, по сути, их обновление – повреждение будет ликвидироваться с такой же скоростью, с какой оно распространяется; как полагал Камфорт, именно это и происходит. Но если предпочтения при отборе митохондрий для разрушения нет, то поврежденные митохондриальной ДНК будут накапливаться.

Теория порочного круга митохондриальной ДНК получила *поверхностное* подтверждение в исследованиях 1990–х годов, в которых было показано, что в стареющем организме действительно накапливаются клетки с мутантными митохондриями. Но эти же исследования пробили в ней новую, еще более сокрушительную брешь.

Для начала обнаружилось, что все мутантные митохондрии, имеющиеся в клетке в данный момент, несут *одну и ту же мутацию*, а это прямо противоположно предсказанию теории порочного круга. Если каждая отдельно взятая митохондрия разрушается в индивидуальном порядке вследствие самоускоряющегося цикла свободнорадикальных атак ДНК, то в каждой митохондрии будет свой случайный набор мутаций. Точно так же, если вдруг два библиотекаря начнут палить из автоматов по книжным полкам, то пули повредят разные книги, даже если стрельба идет в одном и том же помещении; скажем, один вогнал пулю в корешок “Пробуждения Финнегана”, а другой – в середину обложки “Дневника Бриджит Джонс” как раз над буквой “и” и т.д. случайным образом, пока у них не кончатся патроны.

И действительно, где бы ни обнаруживались клетки с дефектными митохондриями, все мутанты содержали одну и ту же мутацию ДНК. Как если бы те библиотекари каждый день, стреляя лишь однократно, попадали только и точно в экземпляры “Над пропастью во ржи”. Глупо ожидать, что случайные мутации, постоянно происходящие в каждой митохондрии, могут привести к тому, что во всех поврежденных митондриях окажутся одинаковые ошибки в ДНК; случайным мутационным процессом невозможно объяснить ситуацию, когда в клетке все митохондрии содержат одни и те же нарушения или когда в клетке присутствуют только неповрежденные митохондрии.

Более того, присутствие мутантных митохондрий оказалось феноменом типа “все или ничего”: уж если в клетке имеются поврежденные митохондрии, то *все* “энергостанции” оказываются мутантными, да еще все мутантные митохондрии в данной клетке содержат одну и ту же мутацию, в то время как в других клетках содержатся *только* юные, неповрежденные органеллы.

Но и это еще не все. Есть и более странные факты. В пределах одной клетки все митохондрии несут одну и ту же мутацию, тогда как в разных клетках мутации *разные*. Как если бы в одном городе все библиотекари наштапиговали свинцом все экземпляры “Войны и мир”, а их коллеги в другом городе одновременно столь же целенаправленно изуродовали “Любовника леди Чаттерлей”. Это тот случай, когда даже самый скептически настроенный противник концепции преступногоговора вынужден будет признать, что картина преступления не объясняется случайным актом насилия.

Природа этих мутаций также оказывается несоответствующей теории порочного круга о ведущей роли митохондрий в старении. Предполагалось, что повреждения ДНК, кодирующей митохондриальные белки, отразятся преимущественно в незначительных дефектах в генах этих белков. При этом будут получаться белки, структура которых достаточно близка к адекватной, так что они более или менее способны осуществлять свою функцию, но функционировать могут плохо, из-за чего больше электронов будет доставаться свободным радикалам и меньше будет производиться АТФ. На деле же мутации, накапливающиеся в митохондриях, представляют собой, как ни странно, *делеции* – выпадения относительно крупных кусков ДНК – и из-за таких мутаций *полностью прекращается* образование всех белков, кодируемых митохондриальной ДНК.

Теория порочного круга предполагала, что по мере накопления дефектов митохондриальной ДНК в митохондриях будет образовываться все меньше и меньше АТФ и все больше и больше свободных радикалов. А на самом деле оказалось, что в мутантных митохондриях практически *не* появляется свободных радикалов; изменения в каждой митохондрии следует относить на счет единственного катастрофического события, а не расценивать как “гибель от тысячи ран”

☞ Важно не количество, а качество

Еще одно открытие, казалось, не оставило никакой лазейки, будь то порочный круг или нет, для участия мутаций митохондриальной ДНК в старении: реально лишь очень немногие клетки вообще содержат мутантные митохондрии. Да, у пожилых людей небольшая доля клеток – около 1% – заняты митохондриями со своим дефектом ДНК в каждой; но 99% клеток в этом отношении не страдают. Разве может 1% иметь значение?

Многие биогеронтологи сочли, что эти данные покоńczyли с любимыми теориями, утверждающими важность повреждения митохондрий в старении. Если в почти каждой клетке организма сохраняется такой же уровень производства АТФ, как в молодости, и ущерб от свободных радикалов не боль-

ше, чем был в расцвете сил, то вряд ли возможно, чтобы незначительная доля клеток, да еще с низким уровнем энергообеспечения, в митохондриях которых, однако, образуется не больше свободных радикалов, чем в соседних клетках (фактически вообще *не* образуется), оказывала существенное негативное влияние на функционирование своей ткани или организма в целом. С этой точки зрения теория старения на основе митохондриальных свободных радикалов приказала долго жить.

Такова была ситуация в середине 1990–х годов, когда я осознал неудовлетворительность науки о старении и решил засучить рукава, чтобы изменить положение дел. Печальное состояние теории митохондриальных свободных радикалов призывало меня к новому синтетическому подходу. С одной стороны, имелись веские факты в поддержку центральной роли митохондриальных свободных радикалов в старении; с другой стороны, теории порочного круга (в том виде, в каком они были тогда) не согласовывались с новыми данными. Вот в эту сумятицу я и попал со своими первыми официальными научными публикациями 1997⁹ и 1998¹⁰ гг.; здесь мне и повезло сделать признанный вклад в биogerонтологию. Во-первых, благодаря моим идеям удалось объяснить, каким образом в стареющих клетках накапливаются митохондрии, несущие одну и ту же мутацию, а не случайный их набор (что предсказывалось теорией порочного круга); во-вторых, удалось объяснить, каким образом малое число клеток с мутантными митохондриями может двигать старение организма в целом. Давайте рассмотрим эти аспекты по очереди.

☞ Выживание худших

По теории порочного круга в каждой митохондрии на протяжении ее существования медленно накапливаются небольшие случайные изменения. Тот факт, что в клетках, содержащих мутантные митохондрии, все эти органеллы несут одну и ту же мутацию и мутантные митохондрии полностью вытесняют все нормальные, доказывал неверность этого положения.

Единственной разумной альтернативой представлялась “клональная экспансия”: в одной митохондрии происходит негативное изменение, и ее потомки мало по малу занимают всю клетку. Вспомним, что митохондрии размножаются делением на две части наподобие амёб: в “родительской” органелле копируется ДНК, так что образуются две идентичные копии исходного материала и соответственно два идентичных потомка, каждый из которых несет точную копию и всякой мутации, имевшейся в “родительской” органелле. Поэтому представлялось несомненным, что “клон” одинаковых мутантных митондрий в клетке является продуктом одной митондрии,

в которой произошла данная мутация и которая передала ее своему потомству, вытеснившему все прочие митохондрии и занявшему все их места.

Однако парадоксальна сама мысль о том, что митохондрии с мутантной ДНК каким-то образом завоевывают доминирующее положение в клетке. Ведь эти органеллы так или иначе *дефектны*, в их ДНК из-за свободнорадикальной атаки или из-за ошибки репликации не хватает одного или более крупных участков. Хотя изредка мутации оказываются полезными – иначе не шла бы эволюция – крайне маловероятно, чтобы такое событие случилось снова и снова, и чтобы в результате случайных мутаций в далеко не рядом находящихся клетках определенная митохондрия получала дарвиновское приспособительное преимущество над другими митохондриями. И таки известно, что наблюдаемые в митохондриях мутации вредоносны: они полностью лишают органеллу способности осуществлять окислительное фосфорилирование и тем самым – обеспечения АТФ.

Идея “клональной экспансии” также плохо согласуется с тем фактом, что *многие различные* мутации могут вызывать вытеснение какими-то определенными митохондриями всех прочих. В то время как в пределах одной и той же клетки все мутантные митохондрии содержат одну и ту же специфическую мутацию, в другой подобной клетке могут быть митохондрии, содержащие *совершенно другую* мутацию.

Выходило, что есть не одна специфическая мутация, дающая мутантной митохондрии селективное преимущество, а множество мутаций, возникших независимо в единичных митохондриях в далеко находящихся друг от друга клетках, несут ту же конкурентоспособность. “Неужели это действительно вероятно, – спрашивал я себя, – чтобы происходило множество дающих преимущество, но не связанных мутаций?”

Да! Все эти различные мутации имели нечто общее. Они вызывают не умеренные изменения, повреждая какой-то один белок, – все они принадлежат к типу мутаций, результатом которых является прекращение синтеза всех 13 белков, кодируемых митохондриальной ДНК. Вот это общее свойство, как казалось мне, и могло быть ключом к ответу на вопрос, почему мутантным митохондриям удается доминировать.

Я стал размышлять, чем такие митохондрии отличаются от обычных, нормальных. Они, ясное дело, не производят много АТФ, давая клетке только небольшое количество энергии за счет начальных этапов извлечения химической энергии из питательных веществ; это количество составляет лишь часть того, что дает функционирующая система окислительного фосфорилирования. Такое положение, разумеется, плохо для клетки, но мало повлияет на *саму митохондрию*, которая в норме отдает практически весь продуцируемый ею АТФ. И хотя я не видел пока, как можно объяснить, что

при сокращении отдачи энергии мутантная митохондрия имеет селективное преимущество, было ясно, что – вопреки первому впечатлению – сокращение отдачи энергии на деле не является прямым недостатком *по сравнению с другими митохондриями данной клетки*, который мог бы помешать доминированию.

Другое отличие митохондрии, не способной к окислительному фосфорилированию, от других митохондрий в пределах клетки представлялось более похожим на преимущество: в такой митохондрии больше не образуются свободные радикалы. Напомню, что свободные радикалы возникают при утечке электронов в регулируемых каналах, по которым идет поток протонов в “резервуары”, движущий “турбины” во внутренней мембране митохондрий. Если сама система протонных насосов отсутствует, то и утечки никакой нет – и нет свободных радикалов.

Отсутствие необходимости справляться с постоянным свободнорадикальным разрушением представляется полезным для митохондрии, но не ясно, как именно оно ведет к конкурентному преимуществу по сравнению с окружающими нормальными органеллами. Правда, прекращается бомбардировка ДНК, но она к этому моменту *уже* повреждена (делецией).

Ясно также, что внутренняя мембрана митохондрии более не испытывает атак свободных радикалов, но опять же это, по-видимому, не имеет значения для старения, так как в митохондриях мембраны в любом случае постоянно рвутся и заменяются, будь то во время репликации или под конец их краткой индивидуальной жизни, когда митохондрия с дефектными мембранами отправляется в клеточную “печь для сжигания мусора”.

“Ну-ка, минуточку, минуточку...” – подумал я.

Подобно другим исследователям, ломавшим голову над этим вопросом, я пытался вообразить какое-то обусловленное мутацией улучшение в функционировании митохондрии – что-то на микроскопическом уровне эквивалентное таким преимуществам в борьбе за существование в макромире, как более острые зубы, более быстрые ноги, большая плодовитость. А что если вместо этого важно другое: митохондрия-носитель мутации, не становясь “лучше”, *избегает разрушения?*

☞ Реутилизация отходов

Что заставляет митохондрии отправляться в клеточную систему утилизации отходов? Чтобы точно ответить на этот вопрос, требуется еще много работы. Тем не менее, уже тогда, когда Алекс Камфорт критиковал теорию старения, базирующуюся на образовании свободных радикалов в митохондриях, бытовало мнение, что существует некий избирательный процесс,

специфически отмечающий старые, поврежденные органеллы для разрушения. Но эту точку зрения нельзя принимать на веру без доказательств. Долгое время считалось, что некоторые компоненты клетки находятся в кругообороте постоянного процесса случайной реутилизации: лизосомы (точнее, особая разновидность предшественников лизосом, называемая аутофагосомами, или аутофаговакуолями), циркулируя по клетке, поглощают различные клеточные компоненты, хватая что попадется, просто набирая случайным образом определенное количество материала, так что рано или поздно всякая структура клетки включается в круговорот и обновляется.

Но теперь более распространено иное представление: лизосомы поглощают белки и другие клеточные компоненты целенаправленно. Отчасти это просто способ использования скудных ресурсов. Представим себе, что для сборки старых разрушающихся транспортных средств с дорог (для уменьшения загрязнения воздуха; сокращения выделения в атмосферу газов, усугубляющих парниковый эффект; благоустройства территорий; снижения цен на металлы благодаря их реутилизации), власти рассылают по стране специальных агентов, которые, нецеленаправленно осматривая небогатые районы, случайным образом отбирают машины для отправки на свалку. Такая деятельность дала бы кое-какие результаты, но было бы зря уничтожено много вполне работоспособных автомобилей (даже если не касаться вопроса о праве частной собственности).

Но в некоторых случаях имеются более веские основания считать, что “на свалку” отправляются не случайно попавшиеся, а определенные органеллы. Некоторые клеточные компоненты, превысив срок своего полезного функционирования, становятся явно токсичными для клетки, если их быстро не ликвидировать. Подобно заколдованной метле в “Фантазии”¹¹, которая наполняет бочку водой до тех пор, пока та не перельется, так что вода затопит помещение, многие белки и органеллы приносят пользу лишь какое-то ограниченное время; когда же их роль исчерпана, их нужно убрать, что в клетке означает разрушение для последующей реутилизации. Например, для мобилизации сил иммунной защиты на борьбу с проникшим в организм патогенным агентом требуется образование “провоспалительного” фермента, но, если дать этому ферменту действовать, способствуя воспалительному процессу, и после ликвидации угрозы, то разовьется разрушительное хроническое воспаление, проявляющееся по типу аутоиммунных заболеваний вроде ревматоидного артрита или системной красной волчанки.

Мне пришло в голову, что есть весомые причины, в силу которых клетке нужно разрушать митохондрии с мембранами, поврежденными свободными радикалами. Вспомним, что внутренняя митохондриальная мембрана игра-

ет роль плотины перед резервуаром протонов, движущих энергогенераторную “турбину” комплекса V. “Дырки” в этой мембране означают истощающую резервуар утечку – холостой выход протонов, без генерации АТР. Факты, свидетельствующие в пользу этого представления, а именно утечки из-за поврежденных мембранных молекул, были обнаружены еще в 1970–е годы.¹¹

“Протекающие” митохондрии причиняли бы серьезный ущерб ограниченным ресурсам, ведь цепь переноса электронов продолжала бы работать, тратя извлекаемую из пищи энергию на бесплодные попытки заполнить протонный резервуар. Происходящие из питательных веществ электроны продолжали бы поступать в цепь, использующую их на перекачку через мембрану протонов, которые тут же “утекали” бы обратно, не создавая электрохимического градиента, необходимого для трансформации энергии в нужную клетке форму, без генерации АТР. Запасы энергии в клетке истощались бы, питательные вещества тратились бы на производство не АТР, а тепла, т.е. впустую.

Более того, из-за повреждений внутренней митохондриальной мембраны многие более мелкие белки внутримитохондриального пространства смогут выйти из митохондрии в цитоплазму. Если при этом они сохраняют активность, то, очутившись в неполюженном им месте, могут оказаться токсичными для клетки.

Для клетки прямой смысл иметь на месте какой-то механизм, обеспечивающий отправку митохондрий в лизосомы для разрушения, когда митохондриальные мембраны повреждаются в результате их собственной деятельности. Это предсказание, по-видимому, сбывается: недавно обнаружены (у дрожжей) специфические направляющие белки, которые метят митохондрии для лизосом.¹² Пока еще неизвестно, каким образом в клетке решается, которые из митохондрий нужно пометить, но показано, что образование “дырок” в митохондриальной мембране вызывает некий сигнал, увеличивающий скорость отправку митохондрий “на свалку”.¹³

Я не сомневаюсь, что можно только приветствовать ликвидацию в клетке дефектных и потенциально токсичных компонентов, и природа, как всегда, выработала отличный способ, обеспечивающий это. Но вот что было очевидно: по иронии судьбы, крупные делеции митохондриальной ДНК позволяют несущей их органелле ускользнуть от того самого механизма, который должен обеспечивать внесение митохондрии в “черный список” на уничтожение. Когда в митохондрии случается мутация того типа, что накапливаются с возрастом, в ней тут же прекращается окислительное фосфорилирование, а с ним – образование опасных свободных радикалов. Но сниженное образование свободных радикалов, в свою очередь, ведет к уменьшению причиняемого свободными радикалами вреда. Не забудьте, что, со-

гласно превалирующей теории порочного круга мутации митохондриальной ДНК умножаются, так как из-за них митохондрия производит *больше* свободных радикалов, чем немутантные органеллы. Вот тут, по-моему, сторонники этой теории и делали ошибку.

☞ Что скрывается за чистыми мембранами

Дойдя в своих рассуждениях до этой точки, я тотчас понял, что мутантные митохондрии получают преимущество над нормальными. Даже в совершенно нормально функционирующей митохондрии постоянно с некоторой мало варьирующей небольшой скоростью образуются свободные радикалы, вызывающие повреждение мембран. Через несколько недель это повреждение достигает уровня, при котором митохондрии отправляются “на свалку”, и тогда в клетке возникает сигнал к новому циклу размножения митохондрий, чтобы заменить вышедшие из строя “энергостанции”.

Но этот процесс отсеивает только митохондрии с поврежденными мембранами; в них ДНК еще способна обеспечить транспорт электронов, ведущий к свободнорадикальному повреждению их мембран. Митохондрии с *интактными* (не затронутыми) мембранами, но *поврежденной* ДНК не будут иметь внешних признаков своих внутренних дефектов и ускользнут от Ангела Смерти.

После того, как определенное количество поврежденных митохондрий отправится на уничтожение лизосомами, в клетке возникнет сигнал к репликации митохондрий. Некоторые из оставшихся митохондрий или все они станут воспроизводить себя. А поскольку органеллы с крупными делециями ДНК почти всегда избегают печальной участи имеющих внешне выраженные повреждения, они получают возможность размножаться, тогда как многие митохондрии с поврежденными мембранами, но генетически интактные (!) исключаются из оборота прежде, чем успевают воспроизвести себя. Таким образом, мутантные митохондрии получают селективное преимущество над немутантными: всякий раз, когда происходит репликация митохондрий, все больше и больше таких органелл остаются вне отбраковки, а генетически нормальные органеллы выбраковываются и уничтожаются как “мусор”.

Так действует эволюция живых существ. Среди животных те особи, которые медленнее бегают или менее успешно ищут пищу, или хуже видят, легче становятся добычей хищника, более подвержены воздействию окружающей среды или болезням, из-за чего не успевают результативно размножиться и передать свои гены следующим поколениям. Тем временем другие, лучше приспособленные особи получают больше шансов оставить потомство, которое будет нести в своих генах то, что обеспечило преимуще-

ство, и тем самым оно закрепляется в череде поколений. Постепенно гены, обуславливающие лучшее приспособление к опасным факторам внешней среды, становятся доминирующими в популяции.

В клетке выживанию митохондрий угрожает разрушение лизосомами – своего рода хищниками, благодаря которым выживают лишь митохондрии, пригодные для безопасного производства потребной клетке энергии. Путь, которым эволюционируют (да, эволюционируют!) митохондрии, – это способ *маскировки*, скрывающей их от “глаза хищника”. Совершенно нефункциональные митохондрии благодаря отсутствию повреждений в мембранах выглядят нормальными для механизма клеточного надзора. Эти органеллы, как фарисеи, чисты снаружи, но черны внутри.

Я пришел к выводу, что эта концепция “замаскированных мутантов” впервые дает последовательное объяснение преобладания в клетках дефектных митохондрий. Я назвал ее SOS (от англ. Survival of the Slowest – выживание самых медленных, или, шире, худших), поскольку постулируется приспособительное преимущество *бездействующих* (“медленных”, или худших) митохондрий в дарвиновской борьбе за существование во внутриклеточных “джунглях”. (См. **рисунок 3.**)

Теперь, объяснив, каким образом в небольшом числе клеток “приходят к власти” дефектные митохондрии, придется ответить на, быть может, еще более важный вопрос: *каким образом эти клетки, составляющие лишь небольшую долю всех клеток организма, движут старение всего организма?* Скоро и на этот вопрос нашелся хороший ответ.

☞ Гипотеза восстановительной “горячей точки”

В прежних моделях порочного круга не требовалось изобретать никакого дополнительного механизма, чтобы объяснить, какой вклад дают мутации митохондриальной ДНК в старение, поскольку предполагалось накопление с возрастом все более дефектных митохондрий во множестве клеток. По мере того, как в этих клетках все больше и больше митохондрий случайным образом подвергаются свободнорадикальной бомбардировке, сами клетки все больше и больше страдают от окислительных повреждений, все больше и больше испытывают дефицит АТФ и эффективность производства энергии с каждым новым дефектом падает. Это было красивое разумное объяснение роли мутантных митохондрий в старении организма.

Но, как мы видели, оно явно неправильное. В большинстве клеток организма с возрастом *не* накапливаются мутантные митохондрии; это происходит самое большее в 1% из многих миллиардов составляющих организм клеток. Большинство клеток и тканей не страдают от падения производства

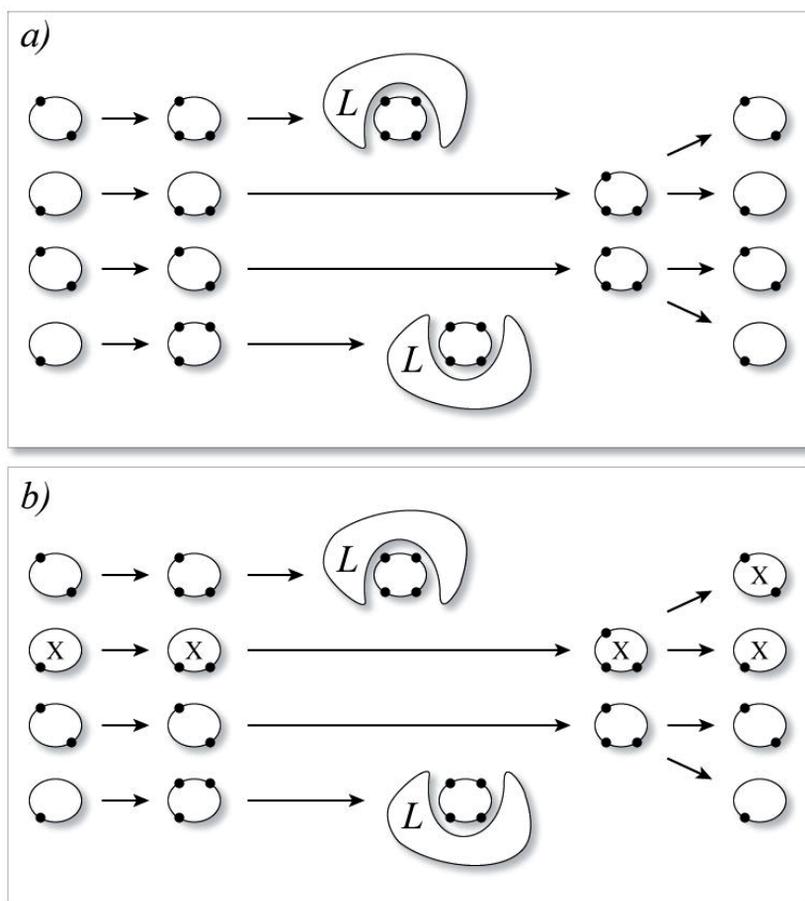


Рисунок 3.Схема SOS (выживания худших) накопления мутаций митохондриальной ДНК. (а) Предполагаемый нормальный кругооборот и обновление немутантных митохондрий; точками изображены повреждения мембран. (б) Клональная экспансия мутаций (обозначены буквой “X”), обусловленная низким уровнем свободнорадикального повреждения мембран и малой скоростью разрушения лизосомами (L)

или доступности АТФ, а образование свободных радикалов вовсе не возрастает, в большинстве накапливающихся мутантных митохондрий вообще не образуются свободные радикалы, поскольку отсутствует место их образования – цепь переноса электронов.

Трудно было понять, каким образом столь малое число клеток, содержащих мутантные митохондрии и не причиняющих никакого явного вреда окружающим клеткам, могут быть движущей силой старения организма. Под грузом фактического материала многие биogerонтологи решили похоронить эту теорию старения. Однако, как вкратце говорилось выше в этой главе, нельзя сбросить со счета косвенные указания на вклад мутаций митохондриальной ДНК в старение. Чтобы согласовать две группы данных, требовалось истинно новое решение загадки.

Я понимал, что любой усовершенствованный вариант теории старения на основе свободнорадикального поражения митохондрий должен включать два момента. Во-первых, поскольку клеток, захваченных негодными энергостанциями, мало, нужен какой-то механизм распространения вреда из клеток с мутантными митохондриями за их пределы. Во-вторых, нужно объяснить природу этого вреда, поскольку обычное предположение (свободные радикалы), по-видимому, исключалось тем фактом, что в мутантных митохондриях нормальное образование свободных радикалов открыто в самом их источнике.

Я попытался сообразить, что в первую очередь нужно для выживания клеток, занятых мутантными митохондриями. Что им служит источником энергии? Мутантные митохондрии не только не способны осуществлять окислительное фосфорилирование, которое должно удовлетворять в основном потребность клетки в АТФ, но непонятно, как они вообще могут производить энергию в какой бы то ни было форме.

☞ В верх по течению от перекрытой плотины

В нормальных клетках первый этап метаболизма глюкозы, поступившей с пищей, происходит в цитоплазме в процессе так называемого *гликолиза*, представляющего собой цепь химических реакций, в результате которых образуется АТФ, *пируват* (продукт расщепления глюкозы) и некоторое количество электронов, которые могут привести в действие механизм окислительного фосфорилирования в митохондриях. Для переноса этих электронов в митохондрии служат специальные молекулы-переносчики, в частности никотинамидадениндинуклеотид (NAD⁺). Его восстановленная форма обозначается NADH.

Продукт гликолиза – пируват – тоже поступает внутрь митохондрий, где он далее расщепляется с образованием промежуточного продукта, называемого *ацетилкоэнзимом А* (сокращенно ацетилCoA). Этот последний затем используется как сырье в сложной последовательности химических реакций, называемой циклом трикарбоновых кислот (или циклом Кребса, или циклом лимонной кислоты), в результате которой получается намного

больше электронов (также используемых для образования NADH), чем путем гликолиза.

Наконец, NADH, получивший электроны в результате всех этих процессов (гликолиза, образования ацетилСоА из пирувата и цикла трикарбоновых кислот), поступает в цепь переноса электронов, где электроны используются для создания “резервуара” протонов, приводящих в действие механизм генерации энергии, дающий почти все требуемое клетке ее количество.

Биохимия этих процессов хорошо изучена, ее и студенты должны знать. Все они предназначены для поставки электронов в митохондриальную цепь их переноса. Что же будет, если эта цепь не действует, как в клетках с мутантными митохондриями?

Мне представлялось, что все должно застопориться. На каждом этапе от гликолиза до цикла трикарбоновых кислот включительно электроны “отгружаются” на NAD^+ для отправки в цепь переноса электронов. Количество этих молекул–переносчиков, доступных для восстановления до NADH, ограничено, но в норме это несущественно: их всегда достаточно, потому что, отдав свой электрон в митохондриальную цепь переноса электронов, NADH превращается обратно в NAD^+ .

Но, когда естественный “прием груза” (электронов) отсутствует, NADH, по–видимому, некуда девать. (Сходную картину можно себе представить, вообразив, что все нефтеперегонные заводы на Земле вдруг встали. Тогда добычу нефти придется повсеместно прекратить, иначе нефтеналивные суда некуда будет разгружать, и, раз нагруженные, они так и останутся со своей опасной ношей и будут копиться, громоздясь, как в кошмаре.) Поскольку на каждом этапе – для гликолиза, для образования ацетилСоА из пирувата, для цикла трикарбоновых кислот – нужен NAD^+ , отсутствие последнего должно, на первый взгляд, привести к остановке всего энергопроизводящего конвейера и у клетки вообще не останется механизмов генерации энергии в виде АТФ, даже в относительно небольших количествах, которые обеспечивались перечисленными этапами.

Ситуация в клетках с мутантными митохондриями может быть еще хуже. NAD^+ требуется для различных клеточных функций, помимо производства энергии. В отсутствие нормального кругооборота NAD^+/NADH осуществление этих функций будет истощать запас NAD^+ и пополнять запас NADH, еще более расшатывая равновесие в клетке. По мнению некоторых исследователей, многие из осложнений диабета обусловлены избытком NADH и нехваткой NAD^+ , ведущих к нарушениям ряда процессов обмена веществ (хотя дисбаланс NAD^+/NADH при диабете имеет иные причины, отличные от потери способности к окислительному фосфорилированию).

Но, несмотря на все это, клетки, содержащие мутантные митохондрии, *выживают*, что демонстрируется их накоплением с возрастом. Значит, они *где-то* берут АТФ. В то время, когда я занимался этой проблемой, большинство специалистов полагали, что в клетках с мутантными митохондриями прекращается цикл трикарбоновых кислот, а энергию дает гликолиз. Так бывает в мышечных клетках в порядке временной меры при большой анаэробной нагрузке, т.е. когда клетка работает столь интенсивно, что истрачивается весь имеющийся кислород, так что невозможно продолжать окислительное фосфорилирование. Тогда гликолиз обеспечивает клетку небольшим, но достаточным количеством АТФ. По этой логике клетка будет справляться с небольшим избытком NADH благодаря превращению пирувата в молочную кислоту (в этом состоит биохимическая природа хорошо известной спортсменам жгучей боли в мышцах на излете резкого их напряжения, например, у штангиста на последнем подходе к снаряду).

Но я сознавал, что эта теория не согласуется с фактами. Начать с того, что не наблюдается ожидаемого всплеска уровня молочной кислоты. Еще непонятнее, что в клетках с мутантными митохондриями вместо падения активностей ферментов, участвующих в цикле трикарбоновых кислот, (чего можно было бы ожидать из-за отсутствия свободного NAD⁺) имеет место их *гиперактивность*. Как же поддерживается невозможный, казалось бы, процесс?

☞ Урок мистера Никто²

Прорыв к пониманию этого явления произошел, когда были созданы так называемые р⁰ (ро-ноль) клетки, у которых в митохондриях вообще нет ДНК. Функционально они подобны клеткам с мутантными митохондриями, в которых из-за делеций отсутствует способность к трансляции генетической информации с образованием функциональных белков. Нетранслируемая ДНК все равно, что отсутствует: невозможно пользоваться инструкцией, которую нельзя прочитать. Делеции в митохондриальной ДНК ставят митохондрии в такое же положение, как полное отсутствие ДНК.

Одним из первых свойств р⁰ клеток обнаружилась их малая продолжительность жизни: эти клетки очень быстро гибли, если только культуральная среда не содержала определенных компонентов, которых в норме нет в межклеточной жидкости организма. Парадоксально, *некоторые из этих веществ не обладали способностью проникать внутрь клеток*. Отсюда следовало, что каков бы ни был механизм их действия, он осуществляется *снаружи* клетки. У меня будто свет забрезжил в голове; ведь я искал способ обяснить, каким образом клетки, занятые мутантными митохондриями, рас-

пространяют вред за свои пределы, влияя на весь организм. Что если эти вещества спасают r^0 -клетки потому, что снимают с них груз какой-то вредоносной субстанции?

А что если этой вредоносной субстанцией являются как раз... *электроны*?

При этой мысли я тут же связал ожидаемый избыток NADH в клетках, не способных осуществлять окислительное фосфорилирование, и зависимость r^0 -клеток от присутствия обезвреживающих веществ в окружающей среде. Клеткам с мутантными митохондриями нужно куда-то девать электроны, чтобы появился свободный NAD⁺, а обезвреживающие вещества все оказались акцепторами электронов и могли действовать даже снаружи клетки. И вот моя гипотеза: клетки с мутантными митохондриями избегают губительного накопления неиспользованных электронов, выделяя их наружу посредством примерно такого же механизма, какой обеспечивает выживание r^0 -клеток в культуре, и таким образом вредоносные агенты (электроны) распространяются по организму.

☞ Предохранительный клапан

Чтобы превратить эту идею в новую формулировку теории старения на основе митохондриальных свободных радикалов, нужно было четко ответить на три вопроса. Первый: каким образом образующиеся внутри клетки электроны передаются на акцепторы, находящиеся по другую сторону клеточной мембраны? Второй: раз акцепторы электронов, использовавшиеся в экспериментах с r^0 -клетками, не содержатся в жидкостях тела (или присутствуют там в неадекватных концентрациях), то что играет роль акцепторов электронов для клеток с мутантными митохондриями в организме? Третий: есть ли объяснение распространению вреда от клеток с мутантными митохондриями по всему организму, что, по-видимому, должно иметь место, если они играют значительную роль в старении?

На первый вопрос ответ, оказывается, уже имелся. Давно известно о существовании в клеточной мембране механизма экспорта электронов, который сейчас называют окислительно-восстановительной системой плазматической мембраны (PMRS – от англ. Plasma Membrane RedOx System). Его истинное назначение в организме было малопонятным, но основная функция установлена: он принимает электроны изнутри клетки от NADH и транспортирует их наружу, тем самым, осуществляя кругооборот NADH|NAD⁺. Этот механизм позволяет и нормальным клеткам лучше регулировать внутриклеточное равновесие между окислителями и восстановителями и поддерживать наличие NADH и NAD⁺, требующихся для жизненно важных биохимических реакций. Иными словами, этот механизм дела-

ет как раз то, что нужно для выживания клеток с мутантными митохондриями. PMRS оказался почти безупречным кандидатом на эту роль. Изучавший его д-р Альфонс Лауэн из Университета Монаш (Австралия) к тому времени уже показал (и не подозревая о применении в теориях старения, заметьте) не только что механизм PMRS способен подавать электроны на те самые не проникающие через клеточную мембрану акцепторы электронов, которые способствуют выживанию р⁰-клеток, но и что активность PMRS *необходима* для их выживания. Это доказывало, что экспорт электронов – необходимое условие выживания клеток и что PMRS служит для их выхода из клетки в окружающую среду, как из гавани в открытое море.

Способность клеток с мутантными митохондриями превращать NADH обратно в NAD⁺ позволяет им осуществлять процесс нормальной клеточной жизнедеятельности, не перегружаясь электронами до такой степени, при которой внутриклеточная среда становится совершенно неподходящей для других важных химических реакций. Более того, это, как я понимал, давало разумное объяснение тому факту, что в клетках с мутантными митохондриями активен цикл трикарбоновых кислот. В отсутствие окислительного фосфорилирования усиленное функционирование цикла трикарбоновых кислот вдвое увеличивает производство необходимого ATP за счет сахаров (а также позволяет решить много других метаболических задач, в которых участвует цикл трикарбоновых кислот). Это становится возможным благодаря PMRS, который включает значительно возросшее количество NADH в кругооборот, обеспечивая клетку дополнительным количеством NAD⁺, требующимся для цикла трикарбоновых кислот.

Но из-за значительного увеличения активности PMRS, нужного, чтобы поддерживать возросшую активность цикла трикарбоновых кислот, поверхность клеток с мутантными митохондриями так и кишит экспортированными электронами, так что создается “горячая точка” восстановительного потенциала (т.е. нестабильный избыток электронов). Естественно, возникает следующий вопрос – на какие молекулы PMRS разгружает излишек электронов? Из тех акцепторов электронов, которые использовались для сохранения жизнеспособности р⁰-клеток в культуре, ни один не содержался в живом организме в достаточной концентрации – значит, что-то еще выполняло эту ключевую роль. Например, какую-то часть электронов мог бы принимать *дегидроаскорбат* – продукт превращений витамина С, образующийся после того, как тот используется для нейтрализации свободных радикалов; однако его недостаточно, чтобы справиться с мощной восстановительной “горячей точкой”, создаваемой клетками с мутантными митохондриями.

И тут меня осенило: с ролью акцептора электронов отлично справится, цементируя всю гипотезу, наш старый друг – двуликий кислород.

Не носи мусор на чужую помойку

Разумеется, кислород способен принимать электроны из своего окружения. Как говорилось выше, именно так в митохондриях образуются свободные радикалы в ходе окислительного фосфорилирования: “ушедшие в аут” электроны с электрон–транспортной цепи подбираются молекулами кислорода, растворенного в окружающей клетки среде. И кислород – единственный компонент жидкостей организма, способный акцептировать электроны и присутствующий в количестве, достаточном для поглощения той колоссальной утечки электронов, какая должна быть в клетках с мутантными митохондриями.

В идеале связывание электронов кислородом может быть безопасным: механизм PMRS будет нагружать по *четыре* электрона на каждую молекулу кислорода, превращая его в воду, как это происходит с электронами, нормально следующими по цепи переноса электронов. Но в высшей степени вероятно, что на PMRS какое–то количество электронов тоже “уходит в аут”; их, может быть, довольно много. В таком случае на поверхности клеток с мутантными митохондриями будет образовываться много супероксидных радикалов, последствия чего, очевидно, вредны. Но на деле, может быть, и *не очень* вредны. Можно ожидать, что негативный эффект ограничится ближайшим окружением. Как почти все свободные радикалы, супероксид химически очень активен, а потому живёт очень коротко. Справятся ли с ним местные антиоксиданты или он атакует первое, с чем столкнется (мембрану соседней клетки, например) – его агрессивность тем самым будет погашена. Супероксид наверняка не остается свободным радикалом достаточно долго, чтобы достигнуть удаленных участков тела, как это предполагает теория митохондриальных свободных радикалов.

Но что если образованный PMRS супероксид поразит не компоненты ближайших клеток, а какие–то другие молекулы, которые достаточно стабильны, чтобы путешествовать по организму? На такую роль напрашивается содержащийся в сыворотке крови холестерин, особенно в форме частиц LDL (липопротеидов низкой плотности – тех, что называют “плохим” холестерином), в составе которых холестерин доставляется к клеткам по всему организму.

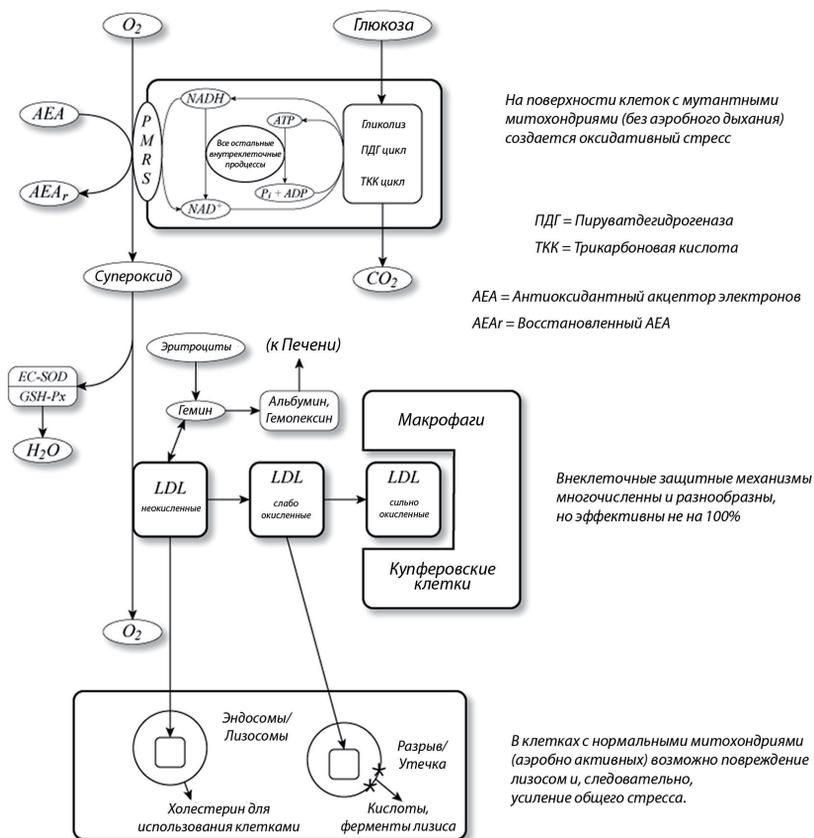
Известно, что окисленный (или, иначе, модифицированный) холестерин действительно имеется в организме, и общепризнано, что он главный виновник развития атеросклероза (к этой теме мы еще вернемся в главе 7). Представлялось вероятным, что появляющийся на поверхности клеток с мутантными митохондриями супероксид может окислять проплывающие

мимо частицы LDL, которые оказываются легкой добычей не только потому, что их везде много, но и потому, что из-за наличия в них слабо связанных реакционноспособных ионов металлов, например железа, взаимодействие с супероксидом еще более вероятно. Можно было бы полагать, что присутствие антиоксидантов, например растворенного в LDL витамина Е, предотвратит атаку супероксида, но установлено, что это не так. Окисленные LDL обычны в организме, и с помощью надежных методов анализа, выявляющих перекисное окисление липидов, показано, что добавки витамина Е не уменьшают окисление жиров у здоровых людей.¹⁴ Фактически, отсутствие антиоксидантных компонентов в недоступной “сердцевине” частицы LDL означает, что когда она подвергается воздействию более интенсивному, чем обычная свободнорадикальная атака, присутствующий в ней витамин Е на самом деле *ускоряет* распространение свободных радикалов в глубь частицы в процессе так называемого токоферол–опосредованного перекисного окисления (токоферол – одно из названий витамина Е).¹⁵

И я увидел свет в конце туннеля своих рассуждений. Окисление LDL – весьма правдоподобный механизм, объясняющий способность клеток с мутантными митохондриями распространять оксидативный стресс по всему стареющему организму. Холестерин в составе LDL, хотя и способствует развитию атеросклероза (когда содержится в крови в избытке), выполняет в организме важную функцию. Холестерин нужен клеткам для формирования мембран, и LDL служат для доставки холестерина из печени и кишечника (где он производится или извлекается из пищи) туда, где он требуется клеткам.

Но если несомый LDL холестерин окисляется, встречая по пути клетки с мутантными митохондриями, то частицы LDL превращаются в опасного троянского коня, доставляя клеткам вредоносный груз – испорченный холестерин. В поглотивших его клетках свободнорадикальное поражение продолжится в хорошо известном комплексе химических реакций, ведущих к прогорканию жиров. С течением времени все больше и больше клеток будут заняты мутантными митохондриями, все больше и больше клеток поглотят окисленные LDL, и оксидативный стресс постепенно захватит весь организм. См. **Рисунок 4**.

Новая теория старения из-за митохондриальных свободных радикалов
Я снова и снова продумывал весь ход событий и постепенно пришел к чувству удовлетворения: у меня получилась – таки полная подробная непротиворечивая картина, объясняющая связь между митохондриальными свободными радикалами и усилением оксидативного стресса во всем организме с возрастом. Эта гипотеза отвечала на все поставленные мной ключевые вопросы и разрешала все явные парадоксы, из-за которых очень многие



Подпись: Гипотеза восстановительной “горячей точки” объясняющая распространение вреда от поначалу малочисленных клеток с мутантными митохондриями.

мои коллеги вообще отказались от теории старения на основе митохондриальных свободных радикалов. Свободные радикалы вызывают делеции митохондриальной ДНК. Мутантные митохондрии не способны осуществлять окислительное фосфорилирование, из-за чего резко ослабевают как производство АТФ, так и образование свободных радикалов. Поскольку мембраны мутантных митохондрий особо не подвергаются свободнорадикальной атаке, лизосомный аппарат клетки не распознает в них дефектные органел-

лы, подлежащие уничтожению, и мутантные митохондрии постепенно вытесняют нормальные (неадаптивный эволюционный процесс, названный мною SOS – выживанием худших.)

Чтобы продолжать производство ATP и других соединений, нужных для выживания клетки, в мутантных митохондриях поддерживается активность цикла трикарбоновых кислот, которая вместе с другими продолжающимися процессами клеточной жизнедеятельности быстро истощает запас необходимого во всех этих процессах NAD^+ , если он не освобождается от “груза” электронов. Последнее осуществляется посредством “предохранительного клапана” для избытка электронов на клеточной мембране – PMRS (окислительно–восстановительной системы плазматической мембраны).

Избыток электронов, скопляющихся на внешней поверхности клетки, превращает ее в восстановительную “горячую точку”, создающую устойчивый поток супероксидных свободных радикалов. Они портят проходящие мимо частицы LDL, которые затем доносят вред до других, удаленных от “горячей точки” клеток, приводя к системному усилению оксидативного стресса во всем организме с возрастом. Из-за оксидативного стресса повреждаются белки, липиды и ДНК, начинаются воспалительные процессы, нарушения клеточного метаболизма и генной экспрессии. Такие события определенно могут продвигать биологическое старение.

Как вы, вероятно, отметили (да мне и самому ясно), эта теория в целом непривлекательна своей сложностью. Но, насколько я понимаю, она единственная объединяющая все данные. В конце 1990-х годов одна за другой были опубликованы две мои статьи на эту тему, а более подробное единое ее изложение приняли как тезисы диссертации на соискание степени доктора философии в Кембриджском университете и напечатали в серии “Molecular Biology Intelligence Unit” (Landes Bioscience).¹⁶ В последующие годы моя теория широко обсуждалась и цитировалась в научной литературе. Увы, несмотря на это как в популярной прессе, так и среди биogerонтологов¹⁷ продолжается использование давно отвергнутых теорий порочного круга для поддержки или развенчания роли митохондрий в старении вместо того, чтобы всерьез взять на вооружение детальное описание наиболее вероятного механизма старения.

Итак, теперь вы познакомились в деталях с моим пониманием вероятной важной роли мутаций митохондриальной ДНК в старении у млекопитающих и узнали, почему я включил их в категорию “нарушения/повреждения” концепции SENS. Теперь на очереди вопрос о том, как справиться с вредным влиянием клеток с мутантными митохондриями. Попытка ответить на этот вопрос излагается в следующей главе.

Как соскочить со сковородки



Есть веские основания считать, что нынешние попытки изменить метаболизм так, чтобы уменьшить повреждения митохондрий (и, следовательно, вред для всего организма) в большинстве своем представляют собой неэффективное использование реальных возможностей. К счастью, имеется лучший путь, обещающий более значительные результаты при тех же затратах времени и средств. Реально возможно и оправданно предотвратить распространение вреда от митохондрий на весь организм с возрастом. И уже ведутся научные исследования различных вариантов первых шагов на этом пути.

☞ В ПРЕДЫДУЩЕЙ ГЛАВЕ Я РАЗЪЯСНЯЛ, мучая читателя подробностями, свои взгляды на сложный механизм, делающий делеции в митохондриальной ДНК основной движущей силой старения. Теперь я должен сообщить вам, что на самом деле *не имеет значения*, верна эта гипотеза или нет.

Сие замечание в равной степени применимо и к другим промежуточным положениям SENS, и оно так важно для инженерного подхода к медицинской борьбе со старением и так вопиюще противоречит интуитивному здравому смыслу, что я должен просить у читателей извинения за чересчур частое его повторение и призвать их к терпению. Но в размышлениях над проблемами борьбы со старением нам следует постоянно иметь его в виду. Если ставится задача лишь понять старение, то рассмотрение по отдельности специфических путей накопления возрастных нарушений действительно совершенно обязательно. Но у нас иная цель – мы хотим положить конец последствиям процесса старения, прекратить неуклонное погружение десятков тысяч людей в немощь с неизбежной смертью.

Старение – это пандемия смертельной болезни, и я верю, что понимание его механизмов, пусть и все еще несовершенное, в настоящее время достаточно, чтобы вмешаться в него. Нужно только установить природу нарушения – природу накапливающихся повреждений, становящихся причиной связанной с возрастом потери функциональности организма – а затем ликвидировать нарушение либо исключить его последствия, угрожающие здоровью и сокращающие продолжительность жизни. На этой задаче и должна быть сосредоточена биogerонтология, эта задача должна быть в числе важнейших целей медицинской биологии в целом.

Проблема мутантных митохондрий – подходящий пример. Мутации митохондриальной ДНК являются одним из нарушений на молекулярном уровне, отличающих биологически молодой организм от старого; имеются веские свидетельства их вредности.¹ Суть нашей задачи не меняется от того, занимают ли мутантные митохондрии клетку путем “выживания худших” или каким-либо иным путем, оказывают ли клетки с мутантными митохондриями вредное воздействие на остальной организм посредством экспорта электронов или совершенно другим образом. Цель терапевтического вмешательства ясна: прекратить возникновение мутаций или нивелировать их влияние. В данной главе мы как раз и обсудим, как достигнуть этой цели.

Однако прежде, чем изложить свои соображения, я должен подробно объяснить, почему соблазнительно звучащие решения проблемы, предлагаемые другими биogerонтологами, будут, скорее всего, напрасной тратой времени и средств, которых и так немного.

☞ Движущийся поезд не остановить

Превентивный подход к борьбе со старением, предпочитаемый многими биogerонтологами, я назвал геронтологическим. Вообще, когда мои коллеги берутся всерьез подумать о том, как *что-либо сделать*, а не просто оттачивают свое понимание происходящего, они в первую очередь стремятся найти способ заставить процессы обмена веществ происходить “чище”, исходя из того, что старение есть следствие накопления вредных и побочных продуктов метаболизма, и если как-то исключить или ослабить такие побочные реакции, то уменьшится скорость накопления с возрастом в клетках и тканях микроскопических нарушений, тем самым замедлится постепенное “сползание” организма в состояние связанной с возрастом немощи, дряхлости и уязвимости вплоть до смертельного исхода.

В этом подходе заключена мощная привлекательность на интуитивном уровне, усиливаемая нескончаемым потоком поощрений и рекламы со стороны производителей биологически активных добавок к пище и обще-

ственных организаций, занимающихся здоровьем населения. Нас постоянно призывают оздоравливать образ жизни и проводить профилактические мероприятия; и людям, разумеется, кажется, что разумнее затратить усилия на борьбу с причинами старения и возрастных заболеваний, чем пытаться ликвидировать уже возникшие помехи на молекулярном уровне. Но, как мы видели в главе 3, причины старения заключены в самой химии жизни, а наши возможности (и способность) полезного вмешательства в эту химию ограничены биологическими закономерностями и природой химических процессов.

В главе 3 я привел примеры, иллюстрирующие этот общий принцип, а теперь рассмотрим более конкретный случай вмешательства в проблему мутаций митохондриальной ДНК. Очевидный подход “старой школы” состоял бы в том, чтобы попытаться ослабить возникновение мутаций, воспрепятствовав свободнорадикальной атаке митохондриальной ДНК. Этот подход был с некоторым успехом применен в экспериментах на мышах,² которым вводили ген антиоксидантного фермента *каталазы*, специфически нацеленного на митохондрии. Каталаза расщепляет обладающие свойствами свободных радикалов молекулы перекиси водорода, превращая их в безвредную воду прежде, чем они успевают причинить существенный ущерб на молекулярном уровне. У животных, получавших целенаправленный ген каталазы, наблюдалось 50-кратное возрастание активности этого фермента в митохондриях, что в значительной степени предотвращало повреждение митохондриальной ДНК, включая некоторые мутации, обуславливающие тот деструктивный процесс, который я описал в предыдущей главе.

Эти результаты достаточно впечатляющи в сравнении с неоднократными напрасными стараниями продлить жизнь при помощи антиоксидантов в составе пищи или с неоднозначными^{3,4,5} либо отрицательными⁶ результатами попыток сдерживать свободнорадикальную атаку (у мышей) путем генетических манипуляций. У мышей, которым вводили нацеленную на митохондрии каталазу, на 20% возрастала не только средняя, но и *максимальная* продолжительность жизни, а последний показатель очень важен для оценки данных, касающихся старения. Подробного исследования возрастных патологических изменений у этих животных не публиковалось, но известно, что у них отмечалось меньше связанных с возрастом дегенеративных изменений сердца и меньше случаев катаракты.

Коли так, почему мы не бросаемся разрабатывать прицельный каталазный метод для человека? Отчасти потому, что применительно к людям непременно требуется надежный метод тестирования разрабатываемого вмешательства для его клинических испытаний. А на этом фронте успехи слабые, как и во всех превентивных подходах в борьбе со старением, о чем го-

ворилось в главе 3. Начать с того, что, поскольку неизвестно никакого быстро развивающегося заболевания, от которого помогало бы введение каталазы, официальные органы здравоохранения не дадут ни разрешения на ее клинические испытания, ни одобрения ее медицинскому применению. Кроме того, для доказательства эффективности каталазы как средства против старения нужно относительно много времени, а значит, и денег, что оставляет мало шансов на привлечение финансирования. Скорее всего, никакой энтузиазм ученых или общественности не доведет каталазный метод до врачебной практики, чтобы спасти молодость, здоровье и самую жизнь: интересы тех, в чьей власти финансирование научных разработок, противоположны прогрессу.

Но, даже если бы не было этих препятствий, я бы все равно считал, что для поисков способа справиться с мутациями митохондриальной ДНК есть более благодарные возможности вложения наших ограниченных средств. У мышей увеличение содержания каталазы приводило к уменьшению частоты мутаций митохондриальной ДНК, но он их *не исключало и не позволяло избежать*. Иначе говоря, это вмешательство *замедляет, но не лечит* растущее накопление данной формы возрастных нарушений. Думаю, что есть подходы и перспективней этого. По моей оценке, не стоит умственных и физических трудов, равно как и денег, метод, дающий 20%-ное увеличение продолжительности жизни (20% означают, что в развитых странах средний человек будет жить около 100 лет); те же силы и средства можно вложить в разработки, которые позволят не предотвращать нарушение, а делать его безвредным. По моим выкладкам, такого рода вмешательство сможет не только резко сократить скорость развития возрастного нарушения, первичной причиной которого являются и другие механизмы, но также – в сочетании с рядом сходных методов – в конечном счете, обеспечить бесконечную продолжительность полной сил жизни. Об этом рассказывается в главе 14.

Вообще-то, если бы исключить одно за другим *иные* молекулярные нарушения, которые ведут к одряхлению и смерти, но “только” замедлить частоту мутаций митохондриальной ДНК настолько, насколько это наблюдалось у мышей, получавших нацеленную на митохондрии каталазу, мы оказались бы засевающими на мели в одном шаге от будущего, простирающегося за пределы обозримого. Когда с помощью лекарств, расщепляющих конечные продукты гликозилирования, удастся возвращать структуру утратившим ее белкам, когда благодаря продуманному стимулированию иммунной системы мы сможем вычищать клеточный “мусор”, мешающий функционированию клеток, когда будут удалены “спящие” клетки, вызывающие упадок иммунной системы – тогда, располагая всеми прочими ключевыми вмешательствами на базе концепции SENS, мы все еще будем перед пробле-

мой митохондрий, играющих в русскую рулетку со своей ДНК. Однако, как бы медленно они не захватывали пространство, все равно эти органеллы останутся слабым звеном в цепи событий, которая иначе привела бы нас к бесконечной молодой жизни.

Те же возражения можно выдвинуть против любого медико–биологического пути борьбы со старением, основанному на предотвращении ключевого нарушения, а не на его истинном излечении. А к каталазному методу есть еще и особое возражение. Дополнительные количества каталазы, вводимые против мутаций митохондриальной ДНК, могут на деле оказаться во многих важных аспектах *вредными* для организма, уже очищенного или ставшего невосприимчивым ко всем другим известным нарушениям, ведущим к старению.

Каталаза уничтожает перекись водорода, которая может причинять ущерб, когда она появляется в результате изъянов процесса окислительного фосфорилирования (а именно так она в основном и образуется). Но эволюция в долгосрочном масштабе действует очень остроумно, находя способы извлечь выгоду из плохого; в данном случае используется перекись водорода. Случайный выброс этого вещества из клеточных энергостанций ничего хорошего не несет, но в клетках некоторое количество перекиси водорода образуется с *определенной целью*: она служит химическим сигналом в регуляции многих клеточных процессов – от метаболизма глюкозы до клеточного роста и деления⁷. В связи с этим следует ожидать, что понижение уровня перекиси водорода в клетке – даже если воздействие сосредоточено на митохондриях – помешает функционированию сложных внутриклеточных механизмов.

Один из наиболее ярких примеров этой потенциальной опасности – участие перекиси водорода в захватывающем митохондрии сигнальном каскаде, которым приводится в действие механизм *апоптоза* – запрограммированной смерти клетки. Апоптоз важен в ходе эмбрионального развития для ликвидации тех клеток, которые нужны организму лишь на определенной стадии его роста. Главная же роль процесса апоптоза подобна механизму саморазрушения в космическом корабле “Энтерпрайз” или в автомобиле “Астон Мартин” Джеймса Бонда: он придает клетке способность к саморазрушению в тех случаях, когда она, “захваченная врагом”, становится опасной для организма в целом, например, зараженная вирусом или ставшая злокачественной. Когда клетки иммунной системы обнаруживают такую клетку, они связываются с ее поверхностью, подавая сигнал митохондриям “выйти из себя” и разрушить клетку. Перекись водорода – один из элементов этой сигнальной системы; показано, что антиоксиданты, включая каталазу, блокируют адекватную активацию программы апоптоза.

Таким образом, значительное увеличение активности каталазы, требующееся для частичной защиты от повреждения ДНК, имеет нехорошую оборотную сторону. И хотя ясно, что итоговый эффект положительный (увеличение продолжительности жизни, уменьшение возрастных патологических изменений), общий баланс выгод и недостатков будет, по всей вероятности, совершенно перевернут в организме, в котором все другие возрастные нарушения ликвидированы: хронический сбой регуляции клеточных сигнальных путей окажется слишком высокой платой за снижение оксидативного стресса.

Наконец, есть основания полагать, что всплеск каталазной активности, которого в экспериментах на мышах добивались в эмбриональный период жизни, *вовсе не получится* во взрослом организме. Гены каталазы экспрессируются (т.е. синтезируется этот фермент) в клетках только определенных типов. Предположительно, это обусловлено своего рода естественным отбором во время внутриутробного развития: лишняя каталаза может быть полезна одним клеткам, но вредна другим, и те клетки, в которых уровень экспрессии высокий и которым вредна лишняя ее активность, вымирают. А тем временем другие клетки того же типа, в которых новый ген *не* экспрессировался, выживают, размножаются и становятся доминирующими. Но осуществление того же во взрослом организме сорвет этот внутренний эволюционный процесс: новый ген получают клетки всех типов без разбору и в некоторых из них негативные эффекты перевесят выгоды каталазной генной терапии. Значит, людям, имевшим несчастье уже родиться, такое лечение никакой пользы не принесет; нечего и предлагать вводить ген каталазы нормально развивающимся детям, не говоря уж о плоде в утробе матери – никто не даст на это разрешения по этическим соображениям.

Но все это не должно нас обескураживать – просто надо сосредоточить усилия на чем-то другом. Как подчеркивалось в главе 4, я защищаю принципиально иной подход к борьбе с возрастными нарушениями на молекулярном уровне. Вместо того, чтобы вмешиваться в метаболизм, пытаюсь *предотвратить* возрастное нарушение (как делеции митохондриальной ДНК), я предлагаю разрабатывать медико-биологические методы, *репарирующие* или *обезвреживающие* мутации митохондриальной ДНК. В то время как большинство людей – будь то профессиональные ученые или специалисты – склонны считать, что такой цели достичь гораздо труднее, чем следуя превентивному подходу, уже имеется (в теории) несколько перспективных методов, для которых нужны технологии *не более* совершенные, чем для введения каталазы в митохондрии, а именно генная терапия. Значит, оба подхода могут дойти до клинической стадии примерно одновременно. А по изложенным выше прагматическим и административным соображе-

ниям *лечащий* (репарационный, обезвреживающий) подход на деле дойдет до страдающих от старения людей раньше, чем превентивный.

☞ На спор: голова против бомбоубежища!

Как говорилось в предыдущей главе, основной причиной необычной подверженности митохондриальной ДНК оксидативному стрессу является его локализация: находиться рядом с протекающим ядерным реактором (митохондриальной цепью переноса электронов) – верный способ увеличить риск мутаций хоть для растущего ребенка, хоть для крохотной биологической машинки. В рамках подхода, ставящего во главу угла “очистку” метаболизма, следует заставить этот реактор работать чище (так, чтобы он производил меньше вредоносных отходов) или же установить оборудование, контролирующее загрязненность, которое улавливало бы побочные продукты прежде, чем они причинят вред (клеточный механизм типа газоочистительных установок на трубах угольных электростанций). Я предпочитаю совершенно иной подход: создать в клетке такую ситуацию, когда мутации митохондриальной ДНК никак не используются и не причиняют вреда. Этого можно добиться, поместив дублирующие копии генов, в норме находящихся в митохондриях, в защищенное пространство клеточного ядра, подальше от постоянной бомбардировки свободными радикалами, образующимися в самих митохондриях. Этот метод называется аллотопической экспрессией, т.е. гены транслируются с образованием белков не в том месте, где им “положено”, а в другом (от греческого *allos* – другой, иной и *topos* – место).

Давайте внесем здесь полную ясность. Аллотопическая экспрессия ничего не даст для предотвращения мутаций естественных митохондриальных генов: свободные радикалы будут, как и прежде, атаковать уязвимые митохондрии, и мутации будут возникать с такой же, как и прежде, частотой. Но наличие в ядре дублирующих полноценных копий генов, подвергшихся повреждению, сведет на нет проявление этих мутаций, потому что в клетке сохранится производство белков, кодированных мутировавшими генами. Таким образом, в митохондриях сохранится функциональная цепь переноса электронов со всеми ее насосами, и эти митохондрии будут действовать *в точности так же*, как митохондрии с интактной ДНК, словно в их ДНК не происходило никаких мутаций. Электроны будут непрерывным потоком поступать с NADH в цепь переноса электронов, протоны будут перекачиваться, свободные электроны будут случайным образом “вытекать”. Эту концепцию иллюстрирует **рисунок 1**.

И еще: поскольку в таких митохондриях будет продолжаться повреждение мембран, клеточная система уничтожения отходов (лизосомы) распо-

знают их, когда они состарятся, и заберет “в расход”. Таким образом, механизм выживания худших, ведущий к преобладанию мутантных митохондрий в клетке, не реализуется, и клетки не переходят в аномальное состояние, которое нужно клеткам с мутантной митохондриальной ДНК, чтобы справиться с дисбалансом $\text{NADH}|\text{NAD}^+$. В результате клетки с мутациями митохондриальной ДНК не будут сбрасывать избыток электронов на LDL, оксидативный стресс не будет распространяться по организму, и вклад этих клеток в старение всего организма в целом будет не больше, чем у клеток с совершенно интактными митохондриями.

“Но, – спросите вы, – что если одни из дублирующих генов сам мутирует?” К счастью, это очень маловероятно. Фактически нет никакого риска функционально значимых сбоев дублирующей системы, даже на протяжении существенно продленной полным комплексом SENS-терапии жизни.

Чтобы разобраться, почему это так, рассмотрим, что требуется для сбоя. В первую очередь для перехода клетки с аллотопической копией митохондриального гена на путь выживания худших нужно, чтобы мутации произошли в обоих копиях гена – и в митохондриальной, и в помещенном в ядро дубликате.

Это гораздо менее вероятно, чем может показаться поначалу. Для находящейся в митохондриях ДНК достаточно необычно претерпевать постоянные повреждения (вспомним, что мутантные митохондрии преобладают у менее, чем 1% клеток), а вероятность мутирования дублирующей копии, находящейся в ядре, гораздо меньше. Помимо того, что в ядре ДНК лучше защищена от свободных радикалов (ядерная ДНК во много раз менее подвержена мутациям, чем митохондриальная), в ядерной ДНК закодировано гораздо больше белков – десятки тысяч против всего тринадцати в митохондриальной ДНК. И даже если свободные радикалы проникнут к ядерной ДНК, вероятность повреждения именно аллотопических митохондриальных генов во много раз меньше, чем прочих генов. Кроме того, вовсе не обязательно, что свободный радикал поразит именно смысловую часть гена (несущую информацию о структуре белка) – скорее, его жертвой могут оказаться многочисленные некодирующие последовательности ДНК. Таким образом, вероятность мутаций одновременно в обоих копиях гена – в митохондриальной и в дублирующей, находящейся в ядре – исчезающе мала.

Более того, из-за особенностей конструкции митохондриальной ДНК крупные делеции лишают митохондрии способности к синтезу всех кодируемых ею белков, тогда как при мутациях в ядерной ДНК страдает синтез только одного белка, ген которого мутировал. Итак, митохондрия не может, разумеется, функционировать безо всех своих тринадцати белков, но мы можем снизить риск “выключения” окислительного фосфорилирования

(и обусловленной этим клональной экспансии мутантных митохондрий), создав двойной или даже тройной набор функционирующих дублирующих копий.⁸

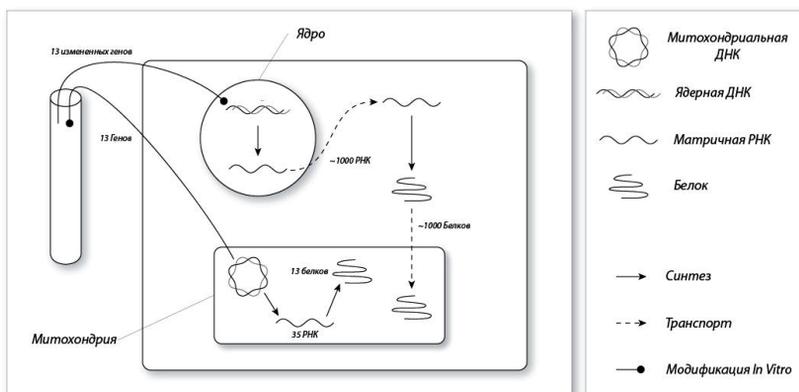


Рисунок 1. Концепция аллотиопической экспрессии позволяет снять опасность мутаций митохондриальной ДНК.

✎ Митохондриопатии

Среди препятствий на пути клинической разработки медико-биологических методов борьбы со старением имеется и формальное: старение не является идентифицированной признанной болезнью, нозологической единицей, поэтому Управление по контролю качества пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств США (известное под сокращением FDA) не даст разрешения на испытание вмешательства, заявленного как средство для борьбы со старением. Это, очевидно, хорошенький ушат холодной воды на головы тех обладателей денежных средств, которые иначе могли бы заинтересоваться вложением денег в разработки, касающиеся связанных с возрастом мутаций митохондриальной ДНК. Поскольку желательно, чтобы как можно быстрее появился клинически приемлемый метод борьбы со старением, аллотиопическая экспрессия имеет то преимущество, что она уже разрабатывается в качестве метода лечения признанной группы заболеваний – *митохондриопатий*.

Так называют заболевания, обусловленные наследственными (или, реже, приобретенными по причинам, не связанным со старением) дефектами митохондриальной ДНК. Эти мутации ведут к упадку энергопроизводства, вслед-

ствие которого нарушаются функции различных органов в зависимости от конкретного дефекта: наиболее страдают мозг, сердце и мышцы, бывают поражены также печень, почки, легкие и некоторые железы. Поскольку аллтопическая экспрессия обещает лечение митохондриопатий, на ее разработку выделяется правительственное финансирование (правда, недостаточное); когда этот метод дойдет до клинического уровня, это побудит вкладывать средства в его развитие, что откроет дорогу для проверки в одобренных FDA клинических испытаниях.

А уж когда будет доказано, что аллтопическая экспрессия безопасна и эффективна для лечения *наследственных* мутаций митохондриальной ДНК, будет легко приспособить ее для мутаций, приобретенных в ходе старения. Такая параллельная применимость отличает большинство направленных против старения вмешательств, включенных в концепцию SENS; и, действительно, прототипные варианты ряда предложенных вмешательств сейчас уже проходят стадию клинических испытаний.

☞ По стопам эволюции

Другие препятствия на пути аллтопической экспрессии имеют более научный характер. К счастью, как мы увидим, в последнее десятилетие эта область быстро и успешно развивалась. И еще лучше: эволюция на протяжении тысячелетий действовала в том же направлении.

В неизмеримо далеком прошлом одноклеточные организмы, к которым восходит наша родословная, вступили в симбиоз (взаимовыгодное совместное существование) с предками нынешних митохондрий, которые были не органеллами, а самостоятельными организмами. Будучи независимыми живыми существами, эти протомитохондрии имели полный набор собственной ДНК – не менее тысячи генов.

Но именно потому, что в полном опасностей окружении митохондрии для находящихся в них генов высок риск мутаций, в ходе эволюции выработалась аллтопическая экспрессия митохондриальных генов задолго до того, как появился человек. В неторопливом, как наступление ледника, эволюционном процессе копии генов, кодирующих митохондриальные белки, переносились в клеточное ядро, после чего исходные митохондриальные гены становились лишним компонентом и мутировали до бесконечности.

Надо отдать должное матери–природе: эволюция зашла по этому пути очень далеко. Из более чем тысячи генов изначально кодировавших митохондриальные белки, все, за исключением лишь тринадцати, перекочевало в ядро.

Начиная с середины 1980–х годов ученые при помощи биотехнологических методов преуспели в аллтопической экспрессии некоторых закоди-

рованных в митохондриальной ДНК белков. Правда, сначала это удалось только у дрожжей, но теория получила практическое доказательство.

☞ Эволюционные и прочие помехи

Но когда мы доходим до тринадцати кодирующих митохондриальные белки генов, находящихся в митохондриях *человеческих* клеток, дело оказывается куда хитрее. Почему эволюционный процесс остановился на этой точке, неясно, тут есть разные предположения, но, по общему мнению, существуют какие-то удерживающие факторы. Каковы бы они ни были, задача не обещает быть легкой. Нужно выяснить, что за факторы удерживают тринадцать генов в митохондриях, и придумать, как их преодолеть. Я предположил, что нас должны волновать только два таких фактора.⁹

Один фактор, действующий не у всех живых организмов, но у человека имеющий значение, состоит в том, что код митохондриальной ДНК несколько отличается от ядерного (как бы разные диалекты одного языка), и из-за этого точная копия митохондриальной ДНК окажется “нечитабельной” в ядре. Эту проблему называют *несоответствием кодов*.

Ситуация здесь напоминает изменения в манере написания буквы “s” в английских текстах. До XIX в. “s” в середине слова писали с длинной “шеей”, так что она походила больше на современную букву “r”. Постепенно, по мере того, как умеющих писать становилось все больше, рукописное начертание букв более-менее унифицировалось, и “s” стали писать с более короткой “шеей”, ближе к нынешнему сильно изогнутому варианту. И современный читатель документов эпохи Просвещения может перепутать морскую команду “Sail for the enemy” (“В атаку!”) с противоположной – “Fail for the enemy!” (“Сдаемся!”), а то и вообще получится бессмыслица.

Из-за разницы в генетических кодах митохондриальной и ядерной ДНК перенос в ядро митохондриальных генов, содержащих “нечитаемые” последовательности, становится неподвластным эволюционному процессу. И, действительно, во всех генах, находящихся в настоящее время в митохондриях, имеются такие оригинальные участки; уже одним этим фактом можно объяснить, почему они не перешли в ядро. Но несоответствие кодов не составляет серьезной проблемы для биотехнологии: зная, в чем коды отличаются друг от друга, можно создать новый аллотопический ген согласно “ядерному” коду (как бы заменить одни значки другими), чтобы он нормально транслировался (т.е. синтезировался соответствующий белок), как это происходит с митохондриальными генами, перенесенными в ядро природой.¹⁰

Другой фактор, по-видимому, представляет менее трудное препятствие для *эволюционного* переноса митохондриальных генов в ядро, но создает

более сложную биотехнологическую задачу. Речь идет о гидрофобности (от греческого *hudor* – “вода, влага” и *phobos* – “страх”; по сути: это отталкивание от молекул воды) многих из митохондриальных белков, гены которых находятся в митохондриях. В этих белках есть участки, которые в силу своей химической структуры столь сильно избегают контакта с водой, что молекула белка принимает такую форму, чтобы они оказались внутри нее.

Гидрофобность не создает проблемы для белков, которые синтезируются по ДНК, находящимся в митохондриях, так как конечная пространственная структура (форма) такого белка запрограммирована, и его полипептидная цепь должна свернуться определенным образом, причем этому помогают специальные ферменты. Но если такой белок будет образовываться по ДНК, находящимся в ядре, то возникает препятствие: трансляция ядерных генов осуществляется в основном компартменте клетки – в цитоплазме, синтезированный белок оказывается в водной среде вне митохондрии, а его нужно как-то перенести внутрь нее через наружную и внутреннюю митохондриальные мембраны и поместить в точку его окончательной локализации.

Белки, разумеется, не могут свободно проходить через мембраны, иначе целостность митохондрии, а стало быть, и ее способность служить резервуаром протонов будет нивелирована постоянным “протеканием” внутрь и наружу. Однако же, есть нужда в трансмембранном переносе многих белков, например тех субъединиц комплексов электронтранспортной цепи, гены которых уже попали эволюционным путем в защищенное пространство ядра. Значит, у митохондрий выработался специальный механизм транслокации (переноса) белков через митохондриальные мембраны. Этот механизм называют комплексом ТИМ/ТОМ (ТИМ – транслоказа внутренней митохондриальной мембраны, ТОМ – наружной).

Но если белок в водном окружении в силу своей гидрофобности принял свернутую конформацию, то он уже не сможет пройти через комплекс ТИМ/ТОМ, как невозможно протащить скрученную в ком вешалку для одежды через водосточную трубу. Хуже того – он его закупорит, т.е. не только новообразованные белки, кодируемые аллотопически экспрессирующимися генами, не попадут, куда им надо, но и многие другие белки, в норме поступающие в митохондрии с помощью комплекса ТИМ/ТОМ, окажутся “за бортом”.

Все тринадцать белков, кодируемых митохондриальной ДНК, очень гидрофобны. Гены некоторых из них никогда не попадали в ядро ни у одного из видов живых организмов, и это гены наиболее гидрофобных белков – значит, гидрофобность действительно создает значительное препятствие на пути аллотопической экспрессии. Есть несколько *вроде бы* исключений, но я опубликовал подробный их разбор⁹, объясняющий, почему эти кажущиеся противоречащими сказанному факты на самом деле таковыми не яв-

ляются, почему они возникли в ходе эволюции, несмотря на проблему гидрофобности.

Итак, чтобы обойти проблему мутаций митохондриальной ДНК путем аллотиопической экспрессии (что, по-моему, предпочтительно), нужно помимо “редактирования” последовательностей митохондриальной ДНК соответственно “ядерному диалекту” (что относительно несложно) найти способ переноса вновь синтезированных белков в митохондрии.

Впервые обратившись к этой проблеме, я предложил реальный, но технически труднодоступный способ, который описал в публикации в журнале “Trends in Biotechnology” в 2000 г.¹¹. Я расскажу об этом способе позже; обсуждение его откладывается потому, что, судя по результатам кое-каких исследований, нет нужды в том длинном пути, который я предлагал. Для преодоления проблемы гидрофобности существуют, по меньшей мере, два иных, более легких способа обеспечить трансмембранный транспорт митохондриальных белков.

☞ Использование изобретательности матушки-природы

Чтобы подступиться к проблеме гидрофобности, начнем с того, что посмотрим, нет ли в природе таких случаев (у других видов), когда эволюция уже проделала нужную нам черную работу. У человека и его эволюционных предков не было шанса на благоприятное сочетание “правильных” случайных мутаций, подходящей окружающей среды и нужного давления отбора, которые обусловили бы передачу ядерных вариантов соответствующих генов потомкам. Но такое счастливое стечение обстоятельств могло быть в эволюционной истории какого-либо другого вида. Проблема гидрофобности решалась под действием естественного отбора *независимо* у многих видов и в ряде случаев была решена, а мы этих решений не унаследовали просто потому, что они были достигнуты в других ветвях эволюционного древа. Но, рассматривая относящееся к митохондриальной ДНК эволюционное наследие других видов, мы, может статься, найдем жизненные решения, которые остается лишь приспособить применительно к человеческим клеткам. Кодированные митохондриальной ДНК белки у других видов отличаются от человеческих, но по структуре они достаточно близки к ним. Резонно полагать, что, если бы их ввести в митохондрии клеток человека, они могли бы заменить природные или, по крайней мере, стало бы ясно, как нужно модифицировать аминокислотные последовательности человеческих белков, чтобы сделать их более транспортабельными. Если бы нашлись виды, у которых гены каких-то из тринадцати митохондриальных белков спонтанно перенеслись в ядро, можно было бы рассчитывать, что удастся вве-

сти эти гены (с минимальными модификациями) в ядро человеческих клеток. Кодированные ими белки синтезировались бы в цитоплазме и переносились в митохондрии, занимая место природных аналогичных белков в тех случаях, когда из-за мутаций последние не синтезируются в митохондриях.

Эта идея вовсе не плод моих фантазий – она уже осуществлена в изолированных человеческих клетках. Такая работа была начата в 1998 г., вскоре после того, как я заговорил о важности открытия, сделанного восемью годами ранее, когда была определена нуклеотидная последовательность библиотеки митохондриальной ДНК зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. Когда у этого организма были идентифицированы белки, кодируемые митохондриальными генами, путем их сравнения с соответствующими белками у других видов, оказалось, что у *Chlamydomonas reinhardtii* отсутствует шесть из тринадцати имеющихся у человека генов, кодирующих гидрофобные белки цепи переноса электронов.

Такие гены можно сравнить с загадочно исчезнувшими ключами от машины: они *не потеряны* – просто их нет там, где, как вы думаете, их оставили. У *Chlamydomonas reinhardtii* произошли изменения, требующиеся для того, чтобы обсуждаемые белки стали менее гидрофобными, потому что основное препятствие к этим изменениям – несоответствие кодов – не возникало. *Chlamydomonas reinhardtii* столь близки к корням эволюционного древа, что у них нет несоответствия между ядерной и митохондриальной системами кодирования в ДНК. В отсутствие этого препятствия эволюции пришлось лишь обратиться к гораздо менее сложной проблеме гидрофобности митохондриальных белков. И здесь был достигнут некоторый успех. У нынешних *Chlamydomonas reinhardtii* гены, кодирующие эти белки, располагаются в клеточном ядре. Цитоплазматический механизм транслирует ядерную генетическую информацию, синтезируя белки, которые переносятся в митохондрии; так происходит с большинством митохондриальных белков у человека.

И здесь на сцену выходит Майк Кинг из Университета им. Томаса Джефферсона в Филадельфии. Поначалу Кинг интересовался не старением, а наследственными заболеваниями, обусловленными патологией митохондрий – митохондриопатиями. Ученые давно мечтали о генной терапии этих заболеваний, но делу мешали большие технические трудности введения генов непосредственно в митохондрии. Кинг рассчитывал, что аллотопическая экспрессия позволит быстрее добиться успеха.

Но проблема гидрофобности не снималась потенциальным решением, о котором говорили наследственные мутации генов тринадцати кодируемых митохондриальной ДНК белков, так же как и расчетом на мутирование митохондриальных генов в процессе старения из-за атаки свободными

радикалами. Когда в конце 1990-х годов Майк Кинг узнал о существовании ядерных генов некоторых митохондриальных белков у зеленых водорослей, он сообразил, что произошедшее у водорослей можно было бы повторить применительно к людям с митохондриопатиями.

Дальнейшие события – пример поразительного прогресса. В 1998 г. Кинг вступил в плодотворное сотрудничество с Диего Гонзалес–Холфеном с кафедры молекулярной генетики Независимого национального университета в Мехико с целью идентифицировать и клонировать гены *Chlamydomonas reinhardtii*, кодирующие шесть аналогичных белков. За три года им удалось определить три из них. Один такой ген, кодирующий белок АТР6 (компонент митохондриального комплекса V – “турбины”), представлял особый интерес, потому что его наследственные дефекты, вызванные мутациями, обуславливали два редких очень тяжелых расстройства мозговой и кишечной деятельности у человека, а именно комплекс симптомов, известный под сокращением NARP (от англ. Neuropathy, Ataxia, Retinitis Pigmentosa – нейропатия, атаксия, пигментный ретинит), и наследуемую по женской линии подострую некротизирующую энцефаломиопатию. При этих заболеваниях синтез АТР сокращается на 50–70%, что ведет к тяжелой дисфункции нервной и мышечной систем. Идентификация важных вариантов мутантных белков несла потенциальную возможность лечения людям, страдающим от этих серьезных расстройств, а также сулила всем остальным успех в борьбе со старением.

Эстафету подхватили Эрик Шон с сотрудниками с кафедры неврологии Колумбийского университета: они ввели клонированные копии гена, кодирующего водорослевый ген АТР6 в ядро человеческих клеток, митохондриальная ДНК которых несла мутации, обуславливающие эти тяжелые нервно–мышечные расстройства. И в клетках происходили трансляция введенных генов, синтез соответствующего белка в цитоплазме, перенос его в митохондрии, отщепление направляющей аминокислотной последовательности (последняя присоединяется к белку, чтобы направлять его в митохондрии) и включение белка в цепь переноса электронов, где он занимал место мутантного белка, спасая клетку от разрушительных эффектов мутации¹².

Иными словами, эти исследователи проделали в точности то, к чему я призывал. Они нашли у другого вида (у водорослей) в клеточном ядре кодирующий митохондриальный белок ген, аналог которого у человека находится в самих митохондриях, ввели его в ядерную ДНК человеческих клеток и показали, что в них он используется так же, как в клетках водорослей, восстанавливая почти до нормального функционирования клеток, несущих мутации, обуславливающие их дисфункцию.

Конечно, впереди еще много работы. Чтобы довести эту работу до уровня лечебного метода для людей с наследственными или связанными с воз-

растом мутационными дефектами митохондрий, нужны еще два достижения. Во-первых, требуется найти у других организмов или создать путем генетической инженерии гены для переноса в ядро, кодирующие *остальные* митохондриальные белки из числа кодируемых митохондриальной ДНК, и доказать, что они восстанавливают функционирование клеток с мутациями в митохондриальной ДНК. Во-вторых, необходимо осуществить успешный перенос и продемонстрировать функциональный результат *в целом организме*, несущем такие мутации, – сначала на лабораторных животных, например на мышах, генетическое манипулирование которыми относительно хорошо разработано, а затем и на взрослых людях (здесь технология еще не разработана, но исследования в этом направлении идут столь интенсивно, что вполне можно ожидать появления безопасного и практичного терапевтического метода в обозримом будущем).

☞ Старые идеи, новые решения

Конечно, нет никакой гарантии, что *все* нужные гены обнаружатся у других видов. Было бы потрясающей удачей, если бы удалось найти весь набор. Но вполне вероятно, что многие гены, кодирующие белки электротранспортной цепи, вообще не попадали в ядро ни у каких видов или что какой-либо белок так изменился в ходе эволюции своей ветви эволюционного древа, что он будет нефункционален у человека. Ну, тогда придется опять положить голову о том, как сделать, чтобы белки, кодируемые имеющимися в нашем распоряжении генами, смогли попадать в митохондрии.

Но и в этом случае есть шансы воспользоваться “достижениями” других видов. Яркий пример – сообщение 2002 г.¹³ об открытии, сделанном группой исследователей из Университета Западной Австралии. Они обнаружили, что некоторые виды бобовых, включая сою и маш (*Vigna radiata*) являют собой промежуточную эволюционную стадию в том смысле, что у них имеется ядерная копия митохондриального гена, кодирующего вторую субъединицу одного из компонентов электротранспортной цепи (а именно, цитохром-с-оксидазы), но в то же время не исчезает и исходный митохондриальный ген.

Тот факт, что эти организмы выжили, хотя у них экспрессируются одновременно обе копии одного гена, сам по себе можно считать хорошей новостью, так как он снимает (в некоторой степени) высказывавшиеся опасения относительно использования аллотопической экспрессии для нивелирования эффекта мутаций: что в клетках с нормальной митохондриальной ДНК и аллотопическими вариантами белков цепи переноса электронов существование двух независимых функциональных копий одного и того

же гена может привести к перепроизводству соответствующего белка и это как-то нарушит равновесие или перегрузит митохондрии, в которых для нормального функционирования электронтранспортной цепи различные ее компоненты должны находиться в определенных соотношениях. (Ситуацию можно сравнить с удвоенной независимой поставкой на фабрику комплекующих для сборки одного и того же продукта, что является серьезным сбоем в любой системе снабжения.) Раз такой проблемы у бобовых нет, значит, нечего и беспокоиться на сей счет, что и хорошо.

А когда другие исследователи сравнили два варианта этих “бобовых” генов, то вскрылось обстоятельство, еще более повысившее в моих глазах шансы на успех затеи перенести полный набор генов митохондриальной цепи переноса электронов в ядро. Как оказалось, два варианта белка различаются по 25 аминокислотам (белковые молекулы построены из молекул аминокислот) из нескольких сотен – но только два из этих различий необходимы “ядерному” варианту для переноса в митохондрии! Отсюда следовало, что у человека нужно лишь относительно немного изменить интересующие нас тринадцать белков для того, чтобы они транспортировались в митохондрии.

Опять-таки я не просто экстраполирую то, что произошло в ходе эволюции у других организмов: налицо реальный прогресс в применении “природных” решений к проблеме старения. Примерно одновременно с работой Шона и его коллег, которые добивались экспрессии АТР6 в человеческих клетках, аллотопически используя водорослевый вариант гена, эти и другие исследователи сообщили также о разработке иного подхода к созданию новых кодируемых ядерной ДНК вариантов того же белка. Разница тут была в том, что они не брали новые белки целиком у другого вида, а модифицировали исходно имевшиеся у млекопитающих. И здесь был достигнут успех: варианты гена человеческого происхождения помогали выжить клеткам с митохондриями, несущими неактивные копии АТР6.^{14,15}

Вскоре после этого третья исследовательская группа получила кодируемый ядерной ДНК вариант другого митохондриального гена, обозначаемого ND4, мутации в котором обуславливали митохондриопатию, называемую наследственной невропатией зрительного нерва (болезнью Лебера)¹⁶. Эти ученые начали с того, что постарались справиться с трудностями, выявившимися при попытках аллотопической экспрессии АТР6. Прежде всего нуклеотидную последовательность ND4 нужно было несколько изменить, чтобы она “читалась” в ядре, поскольку имелось несоответствие кодов, о котором говорилось выше. Затем к этому гену присоединили направляющую последовательность, скопированную с совершенно другого гена (а именно, кодирующего фермент алкогольдегидрогеназу), чтобы обеспечить перенос

в митохондрии. Кроме того, нужно было как-то ввести ген в ядро; для этого был взят за образец вирусный механизм (вирусы умеют внедрять свой генетический материал в ядерную ДНК заражаемой клетки). Наконец, ген снабдили дополнительной последовательностью, которая позволяла ему транслироваться ядерными механизмами для последующего синтеза белка.

На этом сложном подготовительном пути, включающем так много изменений исходного гена, можно было бы ожидать неизбежные *сбои*. Но нет! Не просто копия гена другого организма, а основательно модифицированный ген, целенаправленно сконструированный из первоначального гена, исходя из требований его функциональности, был успешно введен в человеческие клетки с мутантным ND4 и в них стал синтезироваться функциональный, способный проникать в митохондрии белок ND4. Образовавшийся в результате аллотопической экспрессии белок переносился в митохондрии, занимал свое место в цепи переноса электронов и... в клетке *втрое* увеличивалось производство АТФ, приближаясь к уровню, характерному для нормальных, немутантных клеток. Более того, в условиях, заставляющих клетку производить энергию путем окислительного фосфорилирования, выживаемость клеток с укомплектованной “ядерным” белком цепью переноса электронов *втрое* превышала таковую мутантных клеток без этого белка.

Авторы этой работы сделали дерзкий вывод: восстановление клеточного дыхания путем аллотопической экспрессии открывает возможность генной терапии врожденной невропатии зрительного нерва. Я добавлю, что их успех также дает хороший толчок в поисках решения проблемы восстановительной “горячей точки”. Правда, высказывались сомнения относительно методов, использованных для демонстрации выживаемости клеток с введенным геном в двух из вышеописанных работ, но к двум остальным нет никаких претензий.

☞ Интеины: компромисс

Как я надеюсь, два описанных выше подхода достаточны, чтобы справиться с проблемой гидрофобности; но, возможно, с некоторыми из очень гидрофобных белков придется пойти дальше. Одно из потенциальных решений здесь (которое я впервые предлагал еще до того, как описанные выше успехи позволили считать его ненужным) состоит в дальнейшей модификации белков при помощи *интеинов*.

Интеины – это последовательности, временно встраивающиеся в некоторые вновь синтезированные белки, чтобы помочь им достичь своей конечной зрелой формы (после чего они отщепляются). В некоторых случаях

половины конечного функционального белка синтезируются по отдельности, и каждая половина содержит “полуинтеин” на том конце, который должен соединиться с соответствующим концом другой половины. Когда две половины конечного белка встречаются, два полуинтеина сначала связываются (наподобие электротехнических разъемов типа “мама-папа” на гирлянде лампочек для новогодней елки). Затем объединенная интеиновая последовательность отцепляется, и два предшественника конечного белка образуют одно целое – полный белок с окончательной структурой.

Такие интеины можно было бы попытаться использовать применительно к гидрофобным белкам. Один путь здесь – расщепить нужный белок вблизи того места, где он должен изогнуться в водной среде, и на каждый из образовавшихся концов надеть “шапочку” – присоединить полуинтеин. Для сравнения представьте себе, что вам нужно пропихнуть согнутую под прямым углом стальную балку (белок) чрез прямую водосточную трубу (комплекс TIM/TOM). Это, ясное дело, невозможно. Но можно разрезать балку поблизости от изгиба и на концы получившихся кусков сделать короткие насадки, чтобы тот, кто ждет ваш груз на другом конце трубы, понял, как их воссоединить. Полученные части по отдельности легко пройдут через трубу и там из них соберут исходную форму.

Или же цельный интеин встраивается в середину белковой молекулы, так что получается единая длинная структура с интеином посреди. Ну, тут поясняющее сравнение придумать потруднее, но я попытаюсь. Представьте себе, что согнутую под прямым углом балку не разрезают у изгиба, чтобы засунуть в трубу по частям, а разрезав, выворачивают и вставляют в разрез соединительный сегмент, так что получается что-то вроде зигзага молнии. Такая как бы выпрямленная структура (полный белок с интеином) пролезет в трубу (комплекс TIM/TOM), на другом конце которой вставленный сегмент (интеин) вырезается и куски воссоединяются прежним образом.

Такая процедура гораздо сложнее, чем замена пары аминокислот, и я бы не прибежал к ней, если сработает какой-либо из вышеописанных подходов. Впервые выступив с идеей использования интеинов для решения проблемы гидрофобности, я уже предвидел целый ряд потенциально вредных технических препятствий, которые придется преодолеть, чтобы идея осуществилась; я и сейчас не очень точно представляю себе степень сложности всего этого. Интеины следует вводить в определенное место белковой молекулы, и они должны быть подходящей длины; и то, и другое требуется выяснить и подобрать. Кроме того, природные интеины “задуманы” так, что они отцепляются, как только заканчивается сборка содержащего их белка, а для наших целей нужно, чтобы этого не происходило до тех пор, пока полный белок не попадет в митохондрии.

Другая проблема возникает при использовании полуинтеинов. Нужно, чтобы после их отщепления полный белок воссоединился правильно, т.е. чтобы каждая половина белка нашла свою вторую половину. А если одновременно несколько белков переносятся в митохондрии с помощью полуинтеинов или если белок разделяется более, чем на две части (что в некоторых случаях представляется необходимым), то после отщепления интеинов при соединении освободившихся от них концов может случиться путаница. К счастью, похоже, что в природе реализуется “множественная интеинизация” и части белков собираются, как надо, так что, может быть, и проблемы-то нет. И в любом случае проблемы путаницы не будет при втором варианте использования интеинов.

И еще один повод для беспокойства: части белковой молекулы могут начать сворачиваться слишком рано, не успев воссоединиться со своими половинами и приняв такую форму, что место воссоединения стало недоступным и образование полного белка невозможно. Или сворачивание может произойти уже в механизме ТИМ/ТОМ, что приведет к такому же результату, какой был бы вообще без интеинов. Наконец, еще не воссоединившись, но уже освободившиеся от интеинов части белковой молекулы могут быть повреждены ферментами, став нефункциональными или неспособными принять нужную форму.

Но, несмотря на все эти потенциальные препятствия, я могу сообщить и кое-что хорошее. По меньшей мере, один случай успешного использования интеинов в культуре клеток есть.¹⁷ Иосио Умегава с сотрудниками ввели в митохондрии не проникающий в них (в норме) белок, обуславливающий зеленую флуоресценцию. Сначала к гену этого белка присоединили последовательность, кодирующую направляющий в митохондрии пептид. Затем с помощью системы сплайсинга из водорослей включили в него интеиновые последовательности, после чего ввели составной ген в клеточную ДНК. В результате синтезировался соответствующий белок и переносился в митохондрии, где благодаря его присутствию можно было выявить присутствие других направленных в митохондрии белков.

☞ Альтернатива есть всегда

Эта вереница успехов свидетельствует, что можно ожидать быстрого прогресса на пути достижения экспрессии ядерных копий остальных митохондриальных генов при помощи обсуждавшихся выше методов в том или ином их сочетании. Придумав, как поместить все тринадцать генов митохондриальных белков в “бомбоубежище” (ядро клетки), мы вплотную приближимся к возможности нивелировать вредные “старящие” эффекты му-

таций митохондриальной ДНК, ликвидировав восстановительные “горячие точки” и предотвратив образование новых. Когда это будет осуществлено, мы сможем не только остановить, но и повернуть вспять расползание оксидативного стресса по организму, раскручивание спирали молекулярных повреждений и метаболических нарушений, движимую мутациями митохондриальной ДНК.

Но, конечно, нас ждут еще какие-то “волчьи ямы”, что не редкость в медицинских разработках. Бывает, что делаются самые продуманные предсказания на основе имеющихся знаний, но не удается предвидеть непреодолимые “засады”. Больше всего меня беспокоит, что при всех ухищрениях объем работы системы ТИМ/ТОМ при переносе белков, образовавшихся путем аллотопической экспрессии, превысит ее емкость, транспортный поток окажется слишком слабым и не выйдет перенести полный набор белков, даже если с каждым по отдельности все пройдет успешно. Я эти особенно озабочен, так как некоторые из белков, образовавшихся путем аллотопической экспрессии, слабо проходили через систему ТИМ/ТОМ. В одном из описанных выше примеров включение нужного белка в митохондрии составляло всего лишь 40% от нормального содержания в них белка, кодируемого собственной, митохондриальной ДНК.

“Железная леди” Маргарет Тэтчер в бытность свою премьер-министром Великобритании прославилась помимо всего прочего лозунгом “Выбора нет!”, сокращенно TINA (от англ. “There is no alternative!”). Я вовсе не собираюсь рисовать себя этаким идеологом предпочитаемой мной аллотопической экспрессии: на карту поставлены человеческие жизни, а не моя способность признать свою неправоту. Я лучше присоединюсь к рядам противников тэтчеровской глобализации, тысячи которых запрудили Трафальгарскую площадь, скандируя “Not TINA but TATA!” (сокращение от англ. “There are thousands of alternatives!”), что значит “Есть тысячи возможностей!”, или “Выбор есть всегда!”).

Сделав это дерзкое заявление, я потороплюсь добавить, что, по-моему, мы можем спокойно сократить “тысячи” до “несколько” или еще меньше, но реально. Вообще-то, делались ставки на различные решения проблемы лечения митохондриопатий, и на первый взгляд эти решения можно также приложить к проблеме накопления делеций в митохондриальной ДНК. К сожалению, я подозреваю, что большинство этих решений будут бесполезны для предотвращения развития восстановительных “горячих точек”, потому что механизм накопления обуславливающих их мутаций (образование в митохондриях свободных радикалов и клональная экспансия по типу “выживание худших”) совершенно иной, нежели большинства наследственных нарушений у больных с митохондриопатиями. Исследования, направленные

ные на поиски способов лечения митохондриопатий, без сомнения, породят методы и принесут знания, которые в чем-то помогут разработать лечебные мероприятия (посредством аллтопической экспрессии или как-то иначе), но я не думаю, что большинство этих методов и знаний пригодятся для биотехнологии борьбы со старением. Я развенчал основные негодные предложения в упомянутой выше статье, опубликованной в 2000 г. в журнале “Trends in Biotechnology”. Но есть два подхода, представляющиеся мне гораздо более многообещающими.

Один из них, который предложили Рафал Смигроцкий и Шахариар М. Хан из Центра по изучению нейродегенеративных заболеваний при Виргинском университете, состоит во введении в митохондрии модифицированной копии *не отдельных* генов (как обычно делается в генной терапии), а *всей целиком* митохондриальной ДНК. Этот прием, названный авторами *протофекцией*,¹⁸ они осуществили, используя относительно несложные методы, которыми пренебрегает большинство исследователей, считая их негодными для работы. Еще рано говорить о том, насколько универсален и эффективен их подход, его еще не успели опробовать другие ученые.

Другой многообещающий подход к аллтопической экспрессии предполагает введение генов несколько иных вариантов белков, кодируемых митохондриальной ДНК, которые работают не совсем так, как собственные митохондриальные белки клетки. Эти ферменты существуют в природе – и, по крайней мере, теоретически – могут быть заимствованы у некоторых низших организмов (дрожжей и растений). Они обладают точно такой же электронтранспортной активностью, как соответствующие митохондриальные белки человека, но не особенно гидрофобны и у своих естественных обладателей закодированы в ядерной ДНК. Но проблема (если это считать проблемой) в том, что они *только* переносят электроны, но не перекачивают протоны. Однако введение их в клетки – неплохой компромисс: хотя они и не полностью восстанавливают функционирование клеток с мутантными митохондриями, их присутствие предотвратит вредное влияние этих клеток на остальной организм. Такой эффект был продемонстрирован на изолированных человеческих клетках: когда активность комплекса I химически подавляли, обычные клетки быстро погибали, а клетки, в которые ввели соответствующий дрожжевой ген, сохраняли жизнеспособность.¹⁹

В этом подходе есть одно отягчающее обстоятельство. Экспрессия этих генов в клетках, *не содержащих* мутантных митохондрий, истощит их энергетические ресурсы. Допустим, мы бы использовали один заимствованный ген, чтобы “шунтировать” первый фермент цепи переноса электронов (комплекс I) и другой, чтобы “шунтировать” остальные. Ни тот, ни другой не перекачивал бы протоны, так что действие *обоих* вместо собственных ми-

тохондриальных ферментативных комплексов, перекачивающих протоны, нарушило бы образование протонного “резервуара” и, следовательно, производство АТФ. Это привело бы к разнообразным негативным последствиям от умеренных дисфункций до тяжелого дефицита энергии, которые захватили бы *все клетки* организма, а не “чертов” 1% с мутантными митохондриями. В общем, мы бы далеко зашли по кривой дорожке, если только не нашелся бы способ сделать так, чтобы заимствованные гены экспрессировались только в клетках, в которых митохондрии не производят собственных белков. Увы, на сегодняшний день такого способа не видно. Но, к счастью, кое-какие данные указывают на то, что существует *природный* механизм, обеспечивающий активацию заимствованных ферментов в клетке только при несостоятельности соответствующих ее собственных, способных переносить протоны. Что и неудивительно, ведь действие даже одного из них огульно снизит эффективность производства АТФ в клетках.

☞ Путь вперед

В целом, картина получается в розовых тонах. У нас есть не только неплохое объяснение участия мутаций ДНК в связанном с возрастом одряхлении организма, но и ясное представление о пути ликвидации этого участия, даже если наше понимание точного механизма связи между мутациями и патологией окажется неверным. Аллтопическая экспрессия позволит митохондриям нормально функционировать даже с мутациями в ДНК; протофекция позволит периодически заменять мутантную ДНК новой, функциональной; использование заимствованных электронпереносящих ферментов без функции протонного насоса позволит избежать вреда от избытка электронов, распространяющегося от клеток с мутантными митохондриями к здоровым.

Разумеется, для реального медико-биологического применения у взрослых людей требуется разработать безопасные, эффективные и надежные методики генной терапии. Задача, конечно, непростая, но выполнимая; во всем мире ученые уже энергично действуют в этом направлении с целью лечить наследственные расстройства – болезнь Хантингтона, врожденно повышенный риск рака, семейную болезнь Альцгеймера, серповидно-клеточную анемию. Нашей задаче борьбы со старением еще ближе исследования, связанные с поиском лечения митохондриопатий; этому небольшому полю деятельности сейчас уделяется больше внимания и денег, чем собственно геронтологическим исследованиям, ставящим своей целью борьбу с медленной глобальной “чумой” – старением.

С учетом ресурсов, брошенных на продвижение генно-терапевтических разработок, можно с уверенностью предсказать, что клинический уровень

этих разработок не за горами. Поэтому я убежден, что основным препятствием быстрому введению аллтопической экспрессии или альтернативных методов в практику будет не человеческий фактор, т.е. способность ученых разработать безопасные методики генной терапии и довести их до клинического уровня, а недостаточность финансирования фундаментальных научных исследований в области изучения возможностей переноса митохондриальных генов в клеточное ядро.

Помните положительные результаты использования интенинов для переноса белков в митохондрии в культуре клеток? Этот успех пришел потому, что велись поиски быстрой отдачи от результатов совершенно других исследований. Так каких же замечательных и быстрых достижений можно добиться, если средства будут вкладываться специально в разработку аллтопической экспрессии для борьбы с ущербом от старения?!

Как добиться вожеленных изменений в поддержке научных исследований, обсуждается в главе 15. А теперь позвольте ввести вас в курс следующего из семи смертоносных ударов старения и показать, что ему можно противостоять.

Усовершенствование уничтожения отходов



Клеточные органеллы, называемые митохондриями, играют большую роль в старении в связи с действием высоко реакционноспособных химических соединений – свободных радикалов. Когда я только начинал заниматься ролью митохондрий в старении, в середине 1990-х годов, она еще не была четко определена: данные и их интерпретации были противоречивы, единого понимания фактического материала еще не существовало. В этой ситуации я разработал ныне многими поддерживаемую теорию старения, ставящую во главу угла митохондриальные эффекты свободных радикалов. Продолжайте чтение: чтобы понять старение, нужно немного разобраться в том, как устроена и функционирует живая клетка

✎ КАК В ЛЮБОМ ХОЗЯЙСТВЕ, В КЛЕТКЕ ОБРАЗУЮТСЯ ОТХОДЫ – неизбежный продукт ее нормального функционирования. Как и людские хозяйства, клетки избавляются от большей части отходов, хотя и реутилизируют столь существенную их долю, что большинство заботящихся об экологической обстановке предприятий и жилищ были бы посрамлены. Но не все свои отходы клетка может ликвидировать, и эта часть их накапливается, в конце концов причиняя клетке вред. Несколько лет назад я придумал новый подход к проблеме накопле-

ния клеточных отходов, который служит примером – быть может, лучшим среди моих достижений в этой области знаний – плодотворности широкого междисциплинарного взгляда, который так редко встретишь в современной биологии.

“Лучших декораций не пожелала бы и Мэри Шелли,” – думал я, втыкая заступ в неопрятную кладбищенскую землю.

Наскоро оглядев окрестности Кольдхэмской пустоши, вы бы поначалу сочли ее ничем не выдающимся, довольно скучным местом – ни то, ни се, небольшое поле в центральной Англии. Но, узнав его историю, вы бы переменили свое мнение, увидев внутренним взором мрачный, продуваемый всеми ветрами дикий простор словно материализовавшегося пейзажа из “готического” ужасика посреди рассеченной железной дорогой равнины, ограниченной футбольными полями и автостоянками. Хотя это место иногда используется для общественных мероприятий или выпаса скота, большую часть года оно безлюдно и заброшено, известное лишь своей связью с массовой гибелью людей.

В конце XVII в. по Англии шествовала, кося людей, чума. Когда ее ледяные щупальца вползли в Кембридж, жертвой пали то ли треть, то ли половина его преподавателей, включая 16 из 40 университетских профессоров. А молодой Исаак Ньютон спасся бегством. После выжившие второпях похоронили большинство павших анонимно в неосвященной земле. Даже еще прежде чем стать братской могилой, эта земля несла тень связи с заразой и смертью: самая стойкая деталь пейзажа здесь – это развалины Кембриджского лепрозория XII в. Чтобы завершить картину, добавлю, что, как установлено измерениями, на Кольдхэмской пустоши почти всегда на несколько градусов холоднее, чем на окрестных мощеных улицах.

Итак, сцена готова: я, “безумный мозгляк” (образ довершают длинная борода и бледная тусклая кожа), среди Кембриджских ложноготических замков и соборов, преодолев с ненужной скрытностью бесчисленные изгороди, достиг места последнего успокоения неисчислимого множества бранных останков и теперь копаюсь в земле на братской могиле в горячем преследовании тайн жизни и смерти.

☞ Терзайтесь, Виктор Франкенштейн!

Должен признаться, что изложенное выше – *отчасти* поэтическая вольность: копал землю не я, а моя кембриджская аспирантка и на самом деле образцы почвы она взяла на Мидсаммерской пустоши, а не на рядом расположенной Кольдхэмской. Но это так, между прочим. Чтобы понять, что она там делала, давайте перенесемся с кладбища на помойку.

☞ Куда девать отходы

Пишаем ли мы в мусорное ведро, не задумываясь, все подряд или тщательно сортируем и откладываем то, что подлежит реутилизации, все равно у жителей развитых стран каждый день накапливается гора мусора. Решив, что та или иная вещь вам больше не нужна или испорчена до такой степени, что ее починка не стоит усилий, вы просто суετε ее в мешок или бак для мусора и выносите на улицу в твердом расчете на то, что безымянные труженики коммунального хозяйства заберут его с ваших глаз долой, а вам нечего беспокоиться.

Благодаря развитой и вобщем достаточно эффективной инфраструктуре ликвидации отходов успешно убираются колоссальные количества ежечасно выбрасываемого в жилищах, общественных и рабочих местах, на улицах и т.д., так что эти пространства остаются в безопасной чистоте.

Но так было, конечно, не всегда. На протяжении большей части истории цивилизации улицы городов являли собой сущие помойки, так как жители вываливали мусор и выплескивали помои попросту в окно, не заботясь, что или кто там внизу. Большинство из нас и представить себе не может, что за грязь и вонь царили в людских поселениях, где неприбранные отходы превращали округу в поистине *опасное* для здоровья и жизни место. И так было еще сравнительно недавно. Ущерб для жизни из-за баснословно грязной и потому буквально ядовитой окружающей среды можно оценить по данным об ожидаемой продолжительности жизни в районах с разными условиями в Англии XVII в. В сельской местности она составляла 30–40 лет, а в Лондоне 21–34.

Те, кто был свидетелем забастовки мусорщиков 1976 г., практически парализовавшей Лондон, не понаслышке знают, что функционирование системы сбора отходов критически важно для здоровья и нормального хода повседневной жизни. Невероятно быстро воздвигаются прямо-таки горы мусора чуть ли не трехметровой высоты, и эти шаткие сооружения рассыпаются от ветра или добавления новых порций мусора. Сия картина отвратительна не только на вид и запах: отбросы привлекают разнообразных животных и микроорганизмы, включая возбудителей заболеваний, особенно когда наружу вываливается содержимое мешков с мусором, распотрошенных животными, порвавшихся от ветра, размокших от дождя и разжижения гниющих отбросов. По тротуарам не пройти, и даже на проезжей части возникают препятствия. Люди стараются не выходить на улицу без особой необходимости. Такая забастовка была в 1968 г. в Нью-Йорке; продлившись девять дней, она, можно сказать, поставила город на колени.

Вот что-то в этом роде, а в некотором смысле еще худшее происходит в ваших клетках по мере старения. В стареющей клетке это не временное

“приостановление услуг”, а прогрессирующая дегенерация систем ликвидации и утилизации отходов, по сравнению с последствиями которой результаты плохой работы городских мусорщиков покажутся образцом соблюдения санитарных норм.

Двумя главами выше, обсуждая, почему происходит клональная экспансия мутантных митохондрий, вытесняющих генетически нормальные органеллы, я познакомил вас с лизосомами, которые можно назвать клеточными мусорными печами. Правда, точнее называть их центрами реутилизации, так как функция этих органелл состоит не просто в полном разрушении клеточных отходов, но в расщеплении их на молекулярном уровне до компонентов, которые могут быть использованы как сырье для биосинтеза различных структур – мембран, ферментов и других важных частей клеточных механизмов. Сравнение лизосом с мусорной печью отражает их замечательную мощь в молекулярном “расчленении” поступающих в них материалов, а также химическую природу (напомню, что горение – это химическая реакция) процессов лизосомального расщепления клеточных отходов на их основные компоненты.

В клетке имеются разнообразные механизмы для переработки и повторного использования поврежденных компонентов; лизосомы занимают самыми “противными” отходами, включая то, с чем не справились другие системы переработки. Кроме того, когда эти другие системы *сами* изнашиваются или повреждаются, лизосомы перерабатывают и их (вместе с полупереработанным содержимым). В этой главе рассказывается о возможных неполадках в работе клеточной конечной свалки и о том, как можно на них повлиять.

☞ Сортировка отходов

Живая клетка, как всякое хозяйство, постоянно поглощает одни материалы, производя другие и образуя различного рода отходы. Одна из разновидностей отходов сродни упаковкам, одноразовым ручкам, вышедшим из моды безделушкам. Такие вещи некогда сослужили свою службу, но теперь в них больше нет нужды и от них рады избавиться. Так и с некоторыми клеточными компонентами. Ферменты и сигнальные молекулы вроде предметов одноразового пользования: они производятся для временного или однократного применения в ответ на сиюминутные условия внутри или вокруг клетки, и, выполнив свою задачу, они подлежат деградации.

Другая разновидность отходов подобна тем предметам, которыми вы бы продолжали пользоваться, да они – вот беда! – поломались: разбитый бабушкин фарфор, испорченная винным пятном блузка и т.п. Так же и кле-

точные компоненты – от мелких (отдельные ферменты) до очень крупных (целые органеллы, например митохондрии) – могут утратить функциональность в результате повреждения на молекулярном уровне свободными радикалами и другими вредоносными продуктами “изнанки” метаболизма.

Отходы третьего типа – откровенно вредные, токсичные вещества. Подобно тому, как полезный пищевой продукт (скажем, творог) в результате химических изменений (например, под действием плесневых грибов) может стать опасным для здоровья, так и нормальные составляющие клетки иногда превращаются в ядовитые для нее из-за изменения своей структуры или вредно влияют, оказываясь в избытке. Увидев плесень в пачке с творогом, вы, разумеется, выкинете ее вместе с упаковкой. Клетке тоже необходимо избавляться от опасных веществ, возникающих на месте нужных.

☞ Некрасивые подробности

Все эти клеточные отходы (за исключением опять-таки тех, которые ликвидируются более простыми механизмами) отправляются в лизосомы. Функционирование лизосом обеспечивает надлежащую переработку отходов, удаление токсичных побочных продуктов нормальной клеточной жизнедеятельности, возврат в клеточное хозяйство годных к использованию “стройматериалов” из состава расщепленных клеточных компонентов и освобождение места для нормальных, функционирующих.

Что же конкретно представляют собой эти “мусорные печи” клетки? Лизосома – это ограниченная мембраной органелла, содержащая разнообразные ферменты, каждый из которых предназначен для воздействия на то или иное “слабое место” в химической структуре подлежащего ликвидации продукта, который иначе накопится в клетке и причинит вред. Лизосомальный фермент сначала связывается с объектом разрушения, содержащим химическую структуру, на которую данный фермент рассчитан, а затем меняет свою форму наподобие лапчатого лома, физически раздирая объект на части. Обычно разрыв осуществляется путем химической реакции *гидролиза* (гидролиз – расщепление с участием молекул воды, от греч. *hydrae* – вода); делающие это ферменты называются, соответственно, *гидролазами*.

Как в точности протекает реакция гидролиза, для наших целей не очень важно, но следует помнить об одном ключевом обстоятельстве. Для того, чтобы расщепить данный отход, в лизосоме должен быть *пригодный фермент* (т.е. такой, который *специфически* связывается с отходом и расщепляет его в уязвимом месте) и достаточно кислое внутреннее содержимое (для гидролазной активности требуется кислая среда). Последнее требование важно потому, что форма ферментов и других белков зависит от pH сре-

ды (т.е. от содержания в ней ионов водорода – носителей “кислотности”). И если в лизосоме окажется не тот рН, какой нужен для действия данного фермента, его форма исказится так, что он не сможет играть свою разрывающую роль, как никуда не годится выпрямленный лапчатый лом. Кислая среда также необходима для работы белков, переносящих некоторые отходы внутрь лизосом; даже слабая нейтрализация уже препятствует поступлению “мусора” в центр его реутилизации.

Лизосомальные ферменты, как и другие клеточные белки, синтезируются в цитоплазме согласно инструкциям, содержащимся в ядерной ДНК. Новосинтезированные ферменты переправляются в лизосомы, но механизм переноса совсем иной, нежели митохондриальный комплекс ТИМ/ТОМ. Протоны, создающие кислую реакцию среды внутри лизосомы, поступают туда путем активного транспорта из цитоплазмы при помощи потребляющей энергию (т.е. АТФ) насоса, расположенного в лизосомальной мембране (так называемой *вакуолярной АТФ-азы*).

☞ Неполное сгорание

Вряд ли вы удивитесь, узнав, что, если в организме не производится какая-либо лизосомальная гидролаза, необходимая для расщепления определенных отходов, образующихся в некоторых клетках, или если образуется дефектный вариант этого фермента, неспособный нормально осуществлять свою функцию, то возникают вредные последствия. Именно так развиваются заболевания из группы редких, но хорошо диагностируемых наследственных расстройств, называемых *лизосомальными болезнями накопления* (сокращенно LSD – от англ. lysosomal storage diseases).

Таких заболеваний известно около сорока, но, к счастью, любое из них встречается лишь у одного из 7500 человек. У всех больных имеет место та или иная недостаточность функции лизосом. Во многих случаях полностью отсутствует ген какого-либо лизосомального фермента или наличествует мутантный его вариант, по которому образуется искаженная, нефункциональная гидролаза. В других случаях отсутствует или дефектен один из специализированных транспортных белков на поверхности лизосомальной мембраны, из-за чего соответствующие отходы не могут попасть внутрь лизосом, где должны расщепляться.

Независимо от конкретного варианта результата таких мутаций становится смертельное дегенеративное заболевание. Специфика и тяжесть клинической картины различны при разных LSD и зависят от того, какой именно фермент отсутствует или плохо работает в данном случае. Клетки различных типов производят разные отходы с различной скоростью, и накопление каждого из них имеет свои патологические последствия.

Но во всех случаях поражены многие органы. При болезни Гоше увеличена селезенка и развивается малокровие. Болезнь Нимана–Пика известна в двух вариантах: при быстро развивающемся заболевании (тип А) увеличены печень и селезенка и от рождения начинается дегенерация нервов, что приводит к смерти больного в возрасте 2–3 лет; при более медленно прогрессирующем заболевании (тип В) наблюдаются жировые образования на коже и желтые узелки на веках, шее или спине, увеличены печень, селезенка и лимфатические узлы. При синдроме Гурлера искажены черты лица и деформированы кости наряду с увеличением печени и селезенки, ригидностью суставов, ухудшением зрения, рано развивающимся слабоумием и потерей слуха.

В подробностях причинно–следственная связь между неэффективной ликвидацией тех или иных отходов и конкретными патологическими изменениями далеко не во всех случаях установлена, но общая картина ясна. Не уничтоженные отходы накапливаются в лизосоме, которая от этого увеличивается в размерах и занимает в клетке слишком много места, мешая перемещению прочих клеточных компонентов. *Внутри* лизосомы концентрация кислот и ферментов падает, из-за чего поступление и расщепление *других* отходов, для деградации которых *имеются* нормальные ферменты, замедляется, так что возникает порочный круг.

В некоторых случаях токсичные нерасщепленные отходы накапливаются в цитоплазме. Так может получиться из-за того, что они не могут попасть в перегруженные лизосомы или потому, что нарушилась целостность лизосомы либо она вообще разорвалась и выплеснулось ее опасное для остальной клетки содержимое, включая кислоты и ферменты.

❧ Пределы возможностей лизосом и смертоносные отбросы

Помимо страшных рано проявляющихся патологических изменений, от которых страдают жертвы наследственных расстройств, давно известно, что у всех людей в лизосомах с возрастом накапливается недорасщепленный материал. В частности, из жировых и белковых компонентов мембран и других органических молекул, а также реакционноспособных металлов (медь, железо) формируется и накапливается смешанная вязкая субстанция, называемая *липофусцином*,¹ или в популярной литературе пигментом старения. Его легко увидеть при помощи микроскопа, так как под действием света определенной длины волны он выглядит красным.

Липофусцин – не индивидуальное вещество, этим словом объединяют смесь отходов, которые прошли через лизосомы, но устояли перед их ферментами. Вследствие атак свободных радикалов и гликозилирования (слу-

чайного соединения различных полипептидных цепей в результате взаимодействия с сахарами в крови и клетках) структура этих веществ исказилась так, что участки, на которые могут действовать лизосомальные гидролазы, стали недоступны и окончательное расщепление невозможно (как если бы неразумное дитя схватило изобретательно сложенную фигурку оригами и смяло ее так, что развернуть ее уже не получается).² В итоге такой материал должным образом не расщепляется и, как правило, не может покинуть лизосомы и клетку, так что образуются его скопления, занимающие все больше места в лизосомах долгоживущих клеток, например сердца и мозга.

Впервые обнаруженный в XIX в., липофусцин не привлекал внимания в медицинской биологии до 1970–х годов, когда он стал предметом горячих дискуссий среди биogerонтологов. В то время большинству исследователей казалось *очевидным*, что липофусцин вреден: он медленно заполняет клетки (например, у старых особей приматов в клетках сердечной мышцы он занимает до 10% общего пространства) и ход его накопления параллелен дисфункции клеток у стареющих животных и человека. Действительно, *скорость* накопления липофусцина в сердце у данного вида пропорциональна скорости старения: у обезьян двух разных видов в пубертатный период, в зрелом возрасте и в старости при значительной разнице в календарном возрасте на одинаковых стадиях жизненного цикла отмечается примерно одинаковое содержание липофусцина, накапливающегося в клетках. Многие авторы выдвигали механистическую гипотезу, согласно которой роль липофусцина в старении сходна с патогенезом лизосомальных болезней накопления: лизосомальная недостаточность, накопление отходов, нарушения клеточного транспорта, высвобождение токсичных ферментов и кислот из порвавшихся лизосом.

Но дело было спорное. Многие ученые полагали, что липофусцин не вредный отчасти именно *потому*, что он с трудом поддается деградации. Реакционноспособные участки в его молекулах уже забиты и сцеплены вследствие свободнорадикальных атак и гликозилирования, так что липофусцин химически вполне инертен и не взаимодействует с биологически важными молекулами, как свободные радикалы и другие токсичные вещества. Кроме того, в экспериментах на животных ускорение накопления липофусцина (в результате снижения количества витамина E в рационе) не приводило к сокращению продолжительности жизни, как того можно было бы ожидать от воздействия, усиливающего причину старения.

Однако сообщения об этих экспериментах подверглись острой критике со стороны специалистов, поскольку не было четко показано, что материалом, накапливавшимся в результате дефицита витамина E, действительно был липофусцин. В более ранних публикациях липофусцином нередко на-

зывали другие, родственные вещества (часто называемые цероидом), у которых много общего с липофусцином, но они гораздо легче расщепляются клеточными механизмами. Вероятно, дефицит витамина E вызывал усиление образования этого относительно легко поддающегося переработке материала, тогда как на уровень настоящего липофусцина он не влиял.³ Более того, хотя накопление цероида связывали с различными заболеваниями (при которых не происходит деградации в норме расщепляемых веществ – как бы негенетические болезни накопления), явного отношения к “нормальному” старению цероид не имел.

И споры ходили по кругу. Как часто случалось на заре биogerонтологии, когда данные были неоднозначными, а терминология неточной, виделось мало надежды достигнуть ясности.

Я и сам не придавал должного значения липофусцину вплоть до написания первого наброска моей докторской диссертации. Но это отношение стало меняться после того, как весной 1998 г. в Вентуре (шт. Калифорния, США) на Гордоновской конференции по свободным радикалам я познакомился с Ульфом Брунком, заведовавшим кафедрой патологической анатомии в Университете Линкёпинг (Швеция). Его доклад заставил меня серьезнее расценивать липофусцин – как связующее звено между сложной сетью регулируемых метаболических путей и патологическими изменениями, связанными со старением.

Изучая роль липофусцина в культивируемых сердечных клетках, Брунк сделал первоклассную работу, явившуюся важным методическим достижением, особенно потому, что клетки сердца в организме не делятся. Вообще, когда клетка делится, имеющиеся в ней отходы, включая липофусцин, распределяются между двумя дочерними клетками. Дочерние клетки получают примерно по половине, и так происходит при каждом клеточном делении. Если данный отход производится с небольшой скоростью, его разбавление в ряду поколений клеток полностью уравнивает образование, и критический уровень концентрации, за которым начинается накопление, не достигается. Именно так получается в быстро размножающихся клетках кожи, которые использовались во многих более ранних исследованиях. В них содержание липофусцина и других отходов не нарастало, из-за чего они не могли служить моделью для изучения эффектов лизосомального накопления в таких важных клетках, как нервные и сердечные, которые в норме в организме не делятся. Это давно было ясно, но сердечные клетки мучительно трудно культивировать. Трудность эта во многом обусловлена высокой концентрацией кислорода в атмосферном воздухе. Культуры клеток, как правило, содержат при обычном атмосферном давлении, хотя в организме концентрация кислорода *в семь раз меньше*.

Брунк выращивал долгоживущие сердечные клетки при более физиологической концентрации кислорода и показал, как при усилении оксидативного стресса (т.е. при повышении концентрации свободных радикалов) возрастает образование липофусцина. Он также подтвердил ранее высказывавшееся предположение о том, каким образом накопление липофусцина может нарушать способность клеток к реутилизации использованных компонентов. И в довершение этого Брунку удалось продемонстрировать, что в более старых сердечных клетках накапливаются поврежденные митохондрии, чего не происходило бы при нормальном функционировании лизосом, ведь разборка вышедших из строя “энергостанций” и использование их материалов – один из важнейших аспектов клеточной “экономики”.

В сотрудничестве с Алексом Терманом Брунк сформулировал теорию старения по типу “мусорной катастрофы”.⁴ Согласно этой теории, из-за накопления липофусцина в лизосомах падает концентрация кислот и ферментов. Кроме того, липофусцин снижает эффективное количество ферментов, поглощая их безо всякого действия, из-за чего другие, еще функционирующие компоненты лизосомального содержимого лишаются участия этих ферментов в своих превращениях.

По мере того, как в лизосомах накапливаются отходы, с которыми они не имеют средств справиться, еще больше падает их способность расщеплять находящиеся внутри материалы. Соответственно, отходы проводят все больше времени как в цитоплазме, так и внутри лизосом, дожидаясь своей очереди к “мусорной печи”. Тем временем в них продолжают происходить химические изменения, все больше искажающие структуру, так что лизосомальным гидролазам становится все труднее и труднее добраться до “слабых” мест. В результате даже те обычные клеточные отходы, для деградации которых в лизосомах есть (теоретически) все необходимое, уже не расщепляются с достаточной эффективностью и накапливаются, так что концентрация лизосомальных ферментов и кислот снижается и снижается. В экспериментах Брунка и Термана было показано, что избыток липофусцина может привести к смерти клетки вследствие перегрузки и разрыва лизосом.

Данные, послужившие основой для этой теории, выглядели убедительно, она мне сразу понравилась, и я кое-что из нее позаимствовал для своей кембриджской диссертации.⁵ Но казалось еще сомнительным, чтобы лизосомальная недостаточность действительно давала значительный вклад в старение. Ведь если эта теория верна, то можно ожидать каких-то свидетельств связи липофусцина с возрастными заболеваниями. А мои поиски таких свидетельств поначалу ничего не дали.

Но быстро выяснилось, что эта кажущаяся пустота была обусловлена не отсутствием данных, а плохим сообщением между разными областями нау-

ки. Ученые склонны специализироваться на какой-то одной теме, редко интересуются достижениями в других, даже близких областях. Оказалось, что надо говорить с исследователями не конкретно о липофусцине, а шире – о роли дисфункции лизосом в развитии заболеваний. И тогда меня буквально завалило данными о том, что во главе угла здесь стоит именно накопление отходов, подлежащих переработке в лизосомах, но этот факт был замаскирован профессиональным жаргоном.

☞ Связи с патологией

Атеросклероз

Как раз через год после моего знакомства с данными и теорией Брунка я побывал на устраиваемой раз в два года Гордоновской конференции по атеросклерозу, где обсуждались сложные процессы, ведущие от повышенного содержания холестерина в крови к образованию жиродержащих бляшек в артериях (атеросклерозу), диагностируемой ишемической болезни сердца и, в конце концов, к инфаркту. Как я скоро узнал, специалисты в этой области считали лизосомальную недостаточность центральным среди молекулярных обстоятельств, лежащих в основе образования атеросклеротических бляшек, задолго до того, как я обратил внимание на лизосомы. Но они даже не упоминали липофусцин.

Обычно пораженные атеросклерозом артерии зрительно представляют себе как засорившиеся водопроводные трубы. Жирный материал, будь то сало от ветчины или холестерин крови, пристаёт к внутренней поверхности трубы (артерии), и постепенно образуются закупоривающие скопления, мешающие току жидкости – воды, стекающей из раковины, где моют посуду, или крови в артериях. На самом деле то, что происходит в сосудах, гораздо сложнее этой простой картины.⁶ Атеросклероз начинается с микроскопических дефектов стенки кровеносных сосудов, повреждение которой может быть обусловлено многими различными факторами, включая трение со стороны протекающей крови, высокое кровяное давление, инфекцию и др. Но чаще всего причиной является накопление наших старых знакомых – липопротеинов низкой плотности, склонных прилипать к сосудистой стенке. Организм реагирует на это повреждение, как на всякое другое: секретированы факторы воспаления, чтобы привлечь к месту повреждения клетки иммунной системы, называемые макрофагами, которые проникают в поврежденную ткань и очищают ее от погибших клеток и прочих остатков, способствуя заживлению.

В главе 5 я мало что рассказал о липопротеинах низкой плотности (LDL); называемых также “плохим холестерином”; теперь пора поговорить о них

поподробнее. Холестерин, несмотря на свою плохую репутацию, необходим организму, так как служит важным компонентом клеточных мембран. А частицы LDL в крови являются переносчиками холестерина, доставляя его нуждающимся в том клеткам, которые имеют специализированные рецепторы для холестерина, обеспечивающие его поступление внутрь клеток, где он используется по назначению.

На своем пути к этим клеткам частицы LDL проходят через сосудистую стенку, которая в норме не чинит им препятствий, и проникают в окружающие сосуды ткани. Но когда холестерин химически модифицирован в результате, например, свободнорадикальной атаки (окисленные LDL) или взаимодействия с сахарами крови (гликозилированные LDL), его молекулы приобретают склонность слипаться, становясь менее подвижными. Поскольку свободные радикалы являются неизбежным побочным продуктом, а содержащиеся в крови сахара – необходимым исходным материалом в большинстве основных процессов обмена веществ, они присутствуют повсюду в организме. Соответственно, частицы LDL постоянно подвергаются их разрушительному химическому воздействию. Кроме того, ферменты, предназначенные для привлечения клеток иммунной системы при повреждении сосудистой стенки, тоже действуют на холестерин так, что он становится вредоносным.

По этой главной причине высокое содержание холестерина в крови вредно. Чем его концентрация больше, тем больше он контактирует с повреждающими агентами, тем больше вредного модифицированного холестерина циркулирует в организме. Таким образом, когда привлеченные соответствующим сигналом макрофаги прибывают в участок воспаления, там их ждет масса материала, подлежащего ликвидации. Поначалу эти клетки вполне справляются с тем, что поглощают, и успешно ликвидируют остатки погибших клеток и другой ненужный материал. Но когда в уже ослабленных кровеносных сосудах продолжается вредное воздействие высоких уровней холестерина, сигнальных веществ воспаления, производимых при избытке жировых запасов в теле, или токсичных веществ, образующихся при табакокурении, макрофаги находятся в данном участке все дольше.

По мере того, как макрофаги поглощают все больше и больше отходов, особенно избыточное количество модифицированных LDL, они все хуже успевают справиться с объемом работы, который все возрастает. Все больше отходов не перерабатывается, а накапливается в лизосомах макрофагов или, что не лучше, извергается из лизосом необезвреженным, образуя капли модифицированного холестерина в цитоплазме макрофагов.

Все это продолжается, и макрофаги приходят в такое состояние, в каком был мистер Креозот из скетча “Смысл жизни” популярной группы “Монти

Пайтон”. Если вы видели этот ролик, то наверняка помните сцену в изысканном французском ресторане, куда Креозот явился уже наевшимся до тошноты, но метрдотель (Джон Клиз) настойчиво угощает его устрицами, паштетом из гусяной печени, черной икрой, яйцами-пашот, соусом с трюфелями, анчоусами, беконом и сливками. За едой Креозоту все хуже и хуже, и когда он, в конце концов, собирает всю волю в кулак, чтобы прекратить есть, его упрасивают напоследок взять одну тоненькую “послеобеденную” мятную пастилку. Креозот безвольно ее проглатывает, его лицо искажается ужасом, и он буквально *взрывается* всем съеденным, которое живописно покрывает окружающих, официантов и клиентов без разбора.

Можете представить себе, что кровеносные сосуды, подобно тому ресторану, принимают неиссякающий поток посетителей вроде господина Креозота – макрофагов, прибывших попить на продуктах модификации холестерина. Когда “ресторан” хотят закрыть, упорные посетители (макрофаги) не хотят уходить, продолжая набивать утробу (лизосомы) до тех пор, пока в нее уже не лезет, и это их, в конце концов, убивает, и ресторан (кровеносные сосуды) становится местом последнего успокоения.

Таково в сущности происхождение так называемых пенистых клеток, которые накапливаются в сосудистой стенке, образуя, когда их много, жировые полосы, заметные под микроскопом и в конце концов превращающиеся в полноценные нестабильные атеросклеротические бляшки – сложные по составу структуры с неровной поверхностью, располагающиеся преимущественно в местах повреждений сосудов и содержащие свернувшуюся кровь, сигнализирующие о воспалении вещества и мертвые пенистые клетки. Когда в сосудах появляются такие образования, жизнь человека следует считать в опасности. Рано или поздно под действием внутреннего или внешнего давления атеросклеротическая бляшка разрывается, а ее содержимое попадает в кровоток. Содержимое это не жидкое – оно представляет собой массу полутвердых кусочков, которые из места своего появления в относительно крупных артериях быстро уносятся током крови во все более и более мелкие сосуды. А там они прилипают, блокируя течение крови, иногда в сердце (сердечный приступ, инфаркт), иногда в мозгу (инсульт).

Теперь понятно, что дисфункция лизосом – ключевой этап в превращении нормальной ткани кровеносных сосудов в “мину замедленного действия”. Это, вообще-то, всем известно, но, к сожалению, большинство тех, кто ведет исследования в данной области, придерживаются традиционного *превентивного* подхода к борьбе с атеросклерозом. Существующими средствами против атеросклероза пытаются предотвратить перегрузку макрофагов путем снижения уровня холестерина в крови либо путем сокращения контактирования LDL с метаболически активными агентами, содержащи-

мися в крови (сахарами; ферментами, участвующими в воспалении; свободными радикалами). Разрабатываются препараты, решающие проблему с другого бока: они усиливают транспортировку холестерина *из* крови, клеток или органов, чтобы он не успевал оказать свое вредное действие.

Тем временем, помимо разработки лекарств, ведутся фундаментальные исследования и немало усилий тратится на выяснение точных причин несостоятельности лизосом в макрофагах в расчете на то, чтобы создать лекарственные препараты, вмешивающиеся в соответствующие стадии метаболического пути. Увы, имеющиеся данные не очень согласуются между собой и их можно интерпретировать по-разному, что во многом затрудняет разработку методов лечения атеросклероза, основанных на этой идее.

Так, в центре внимания ряда исследователей находится тот факт, что “в пробирке” окисленный холестерин так сильно подавляет необходимый процесс дезэтерификации нормального (немодифицированного) холестерина в лизосомах, что создается его “мертвый” запас. Высказывалось также предположение, что модифицированные LDL, подобно липофусцину, *сами* не поддаются деградации, снижая концентрацию факторов, нужных лизосомам для деградации других накапливающихся веществ. Есть также указания на то, что какой-то компонент в составе модифицированных LDL (или какой-то побочный продукт их метаболических превращений) негативно влияет на *функционирование* лизосом. Например, обнаружено (опять-таки “в пробирке”), что одна из форм окисленного холестерина, а именно 7-*кетохолестерин*, мешает активности связанной с мембраной АТФазы. А когда этот фермент недостаточно активен, в лизосомах не достигается должный уровень кислотности, необходимый для нормального функционирования гидролаз. Поэтому есть мнение, что именно тут следует искать решение проблемы. Но есть и другая точка зрения: макрофаги просто поглощают слишком много LDL, абсолютный объем которых превышает способность этих клеток к их переработке; в таком случае при замедлении поступления LDL в макрофаги замедлится и развитие патологии.

На сегодня неизвестно, какое предположение ближе к истине; и вряд ли удастся в скором времени прояснить ситуацию, поскольку условия, в которых ведутся исследования, существенно отличаются от физиологических. Пока ученые спорят, атеросклеротическое поражение сосудов остается ведущей причиной смерти в развитых странах. Другие расстройства, происходящие от недостаточной переработки холестерина, тоже можно отнести к широкому спектру связанных с возрастом заболеваний.

К счастью, озарившая меня несколько лет назад⁷ идея, впоследствии подробно разработанная (в сотрудничестве с другими исследователями^{8,9}) в лечебном направлении, дает решение, исключающее необходимость в де-

тальном понимании запутанных метаболических путей на молекулярном уровне. Для этого решения не нужно подробно знать, чем вызвана лизосомальная недостаточность при атеросклерозе – оно предлагает путь очистки *самых* лизосом безотносительно к метаболическим причинам их перегрузки, причем результативность *не зависит* от конкретной причины исходной недостаточности.

Но прежде, чем поговорить об этом, давайте рассмотрим другую группу страшных патологических изменений при старении, в основе которых лежит дисфункция лизосом – одряхление мозга.

☞ **Нейродегенеративные заболевания**

За исключением упоминавшегося выше инсульта, который представляет собой все же скорее внезапное травматическое поражение, нежели дегенеративный процесс, при *всех* основных дегенеративных заболеваниях нервной системы налицо свидетельства неадекватного функционирования лизосом. В большинстве случаев наиболее очевидным показателем является присутствие скоплений определенного агрегированного материала в клетках мозга: тельца Леви при паркинсонизме и некоторых вариантах старческого слабоумия (а именно, при деменции с тельцами Леви); агрегированный хантингтин при болезни Хантингтона; нейрофибриллярные клубки из тау-белка при болезнях Нимана–Пика и Альцгеймера.¹⁰ Однако, поскольку все эти агрегаты находятся не внутри лизосом и не являются липофусцином, роль дисфункции лизосом при этих заболеваниях маскировалась. И опять-таки, если искать связь с липофусцином, можно пропустить нужные данные.

Но в некоторых случаях имеются более прямые свидетельства нарушений в ликвидации вредных отходов. Один из наиболее ярких примеров – болезнь Альцгеймера, при которой в мозгу существенно нарушено расщепление белков в иной, нелизосомной системе реутилизации отходов, а именно в протеасомах. У некоторых больных причиной расстройства, вероятно, являются мутации в гене, кодирующем белок убикитин, из-за которых он подавляет активность белка убикитина, отмечающего белки для расщепления в протеасомах. Как нейрофибриллярные клубки при болезни Альцгеймера, так и тельца Леви при паркинсонизме содержат убикитин, однако протеасомная система, судя по всему, не способна принимать в себя этот агрегированный материал.

Связь с лизосомной системой состоит в том, что протеасомы, не выполняющие своей функции, дают дополнительную нагрузку лизосомам, в которые направляются дефектные протеасомы (и тот материал, который они

не смогли ликвидировать); тем самым усиливается образование липофусцина.¹¹ По меньшей мере часть отходов, не охваченных протеасомами, направляется в итоге в лизосомы; это явление, несомненно, наблюдалось в случае агрегатов, нормально расщепляющихся в протеасомах при болезни Хантингтона; вероятно, им также объясняется присутствие больших количеств липофусцина в лизосомах нейронов при болезни Альцгеймера.

Наиболее значительным свидетельством аномальной работы системы ликвидации отходов при болезни Альцгеймера являются признаки дисфункции самой лизосомной системы. Для сведения: одним из основных путей поступления клеточного “мусора” в центр реутилизации служит процесс так называемой макроаутофагии, состоящий в том, что порция отходов поглощается целиком мембранной структурой, называемой аутофагосомой, или аутофагической вакуолью, которая потом присоединяется к лизосоме и сливается с ней. (Этот термин я уже использовал в главе 5, где упоминалось, что поврежденные митохондрии отправляются в лизосомы.) В результате получается более крупная лизосома, единая мембрана которой заключает в себе содержимое аутофагической вакуоли и гидролитические ферменты (и кислоты) исходной лизосомы, которая теперь будет перерабатывать это содержимое.

Недавние исследования¹² показали, что у страдающих болезнью Альцгеймера эта сторона деятельности лизосом в нервных клетках (нейронах) мозга находится в упадке. Известно, что при болезни Альцгеймера лизосомальная система нейронов мозга, как и протеасомная, по-видимому, и гиперактивна, и плохо действует. Нейрон уподобляется дураку-водителю автомобиля, безуспешно пытающемуся компенсировать изношенность мотора, усиленно нажимая на педаль газа. Новые исследования позволяют предположить, какова основная причина того, что лизосомы не справляются со своей работой. При болезни Альцгеймера клетки мозга, в частности, те, что расположены в областях мозга, которые наиболее поражены патологическими изменениями, заполнены многослойными структурами на основе аутофагосом, устроенных вроде матрешки (одна вакуоль внутри другой, большей, та – внутри еще большей и т.д.).

Некоторые из этих структур, похоже, образуются, когда аутофагосомам не удается слиться с лизосомами; они долго болтаются в клетке, в них появляются повреждения и в конце концов они оказываются так разрушены, что считаются мусором и, соответственно, поглощаются другими аутофагосомами. Когда и эти новые вакуоли не сливаются с лизосомами, все повторяется. В других случаях аутофагосомы сливаются с лизосомами, но те слишком слабы или незрелы и не могут подвергнуть деградации свое содержимое.

Эта картина больше всего напоминает мне ничем не знаменитое судно “Хьян-Си”, которое в 1986 г. в Пенсильвании нагрузили пеплом от городских мусорных печей и отправили на один из искусственных островов Багамского архипелага. Но местные власти не разрешили выгрузить там эти отходы, после чего на протяжении 14 лет “Хьян-Си” перемещалось из порта в порт, пытаясь избавиться от своего груза то в одной стране, то в другой, и так побывало на восточном побережье США, южнее в Карибском море, у берегов Южной Америки, даже в Индонезии и на Филиппинах. В конце концов, это судно, сменив название и под новым флагом, нелегально вывалило ядовитый груз прямо в воды Атлантического и Индийского океанов. Бродячие аутофагосомы, как можно ожидать, *тоже* разгружаются в конце концов, где попало.

Специалисты единодушны в оценке основных фактов: важнейшие нейродегенеративные заболевания характеризуются присутствием в мозгу агрегированных белков и дисфункцией лизосом; не вызывает сомнения существование *некой* связи между очевидной неспособностью клеточных систем ликвидации отходов справиться с этими агрегатами и патогенезом таких заболеваний. Вопрос в том, *какова* эта связь. На интуитивном уровне понятно, что ничего хорошего для нервных клеток в накоплении мусора нет. Большинство специалистов так думают, и легко показать в относительно грубых экспериментах “в пробирке”, что накапливающиеся вещества, будучи добавлены к мозговым клеткам, причиняют им вред, включая инициацию порочного круга, в котором накопление агрегатов нарушает нормальное функционирование нейрона, усугубляя дисфункцию лизосом и агрегацию белков.

Но есть и другие точки зрения. Так, некоторые исследователи, как ни странно, полагают, что белковые агрегаты могут играть в некотором роде *защитную роль*. А именно, если сами агрегаты могут через *какое-то время* помешать жизнедеятельности клетки, будучи в силу своих размеров препятствием для внутриклеточного транспорта, растворимые высоко реакционноспособные субъединицы, *образующие* агрегат, являют собой более непосредственную угрозу нормальному состоянию клетки. И когда эти субъединицы скованы вместе в единую цепь, они не атакуют клеточные структуры вокруг себя; тем самым предотвращается сиюминутная смертельная угроза для клетки.

Кроме того, высказывалось мнение, что агрегаты – это вторичное патологическое явление и что они, свидетельствуя о неполадках в клетке, не дают вклада в патологические изменения. Согласно этой точке зрения, не поддающиеся деградации белковые отложения подобны дыму от выстрела, а не стрелявшему ружью или исторгнутой им пуле: сами по себе они более или

менее безвредны, но их присутствие безошибочно сигнализирует о плохом состоянии клетки. Может быть, например, какой-то другой “мусор” громоздится в лизосоме, не давая ей должным образом перерабатывать клеточные отходы, так что появляются агрегаты, которые сами по себе не являются причиной патологии и не дают в нее вклада. Тем не менее, накопление агрегатов, конечно, вредно для клетки, которой необходимы функциональные лизосомы как для расщепления уже ненужных (безвредных) клеточных компонентов, составные части которых можно использовать в процессах синтеза, так и для уничтожения несомненно вредных отходов. Тут остается открытым вопрос об источнике патологии, который приходится искать где-то еще, помимо явных “гор мусора” в цитоплазме клетки.

Например, при болезни Альцгеймера может быть больше, чем в здоровом организме, дефектных митохондрий, подлежащих реутилизации, что налагает повышенные требования на систему лизосом, а та не способна им соответствовать; коль скоро лизосомы оказываются несостоятельными, другие компоненты могут образовывать агрегаты, но началом растущего “снежного кома” послужили нефункциональные митохондрии. И опять трудно обойти тот вывод, что наблюдаемые в результате белковые скопления представляют собой подобие “лежачих полицейских”, которые и сами, в конце концов, неизбежно создадут проблему для жизнедеятельности клетки.

Увы, каждая из описанных точек зрения имеет веские доводы в свою пользу из фактологии как нейродегенеративных заболеваний, так и старения. Я говорю “увы”, потому что это, по-моему, сдерживает поиски лечебных средств. Так, в 1990-е годы ученые потратили массу времени на “священную войну” между бабтистами (от “бета-амилоидный белок”) и таутистами (от “тау-нейрофибрилярные клубки”); и те, и другие вложили немало сил в попытки доказать право “своих” агрегатов на первичность в патогенезе болезни Альцгеймера. (Я уже слышу вопрос: “А что такое бета-амилоид?” О нем вы много чего узнаете в главе 8.) Сейчас имеет место подобное противостояние по поводу интерпретации роли белковых агрегатов вообще в нейродегенеративных заболеваниях. Образ мыслей старой школы – когда целью ставится найти лекарства, подавляющие ведущие к развитию заболевания метаболические процессы, или, по меньшей мере, повлиять на наиболее вредоносный метаболический путь – предполагает точное детальное понимание механизмов до разработки применимых к человеку терапевтических методов, поскольку вмешательство в метаболические пути весьма рискованно и может принести только вред в том случае, если блокируемый путь окажется ни при чем.

Еще более чем в случае атеросклероза, применительно к нейродегенеративным заболеваниям традиционные медицинские подходы в отношении

белковых агрегатов очень мало что дают из-за непонимания связи между “мусором” и болезнью.¹³ А у меня и на сей раз есть за пазухой идея решения, отмечающая необходимость в этих сложностях.

☞ Макулярная дистрофия

Не имея намерения дразнить читателя, я, прежде чем окончательно раскрыть вам мою идею лечения всех расстройств, включающих лизосомальную недостаточность, и само старение, все же желаю осветить критическую роль агрегатов в третьем важном аспекте старения – *связанной с возрастом дегенерации сетчатки (макулярной дистрофии)*.

В этой главке несколько отпускает неопределенность – настолько, насколько нет противоречивости относительно роли агрегатов в возрастной дегенерации сетчатки. Здесь мы видим классический случай того, как абсолютно необходимый биохимический цикл ведет к разрушению систем, в которых он осуществляется. Как и все жизненные процессы, зрение, в конечном счете, сводится к тонко регулируемым сложным химическим цепным реакциям, а осознаваемое восприятие соответствует, буквально один к одному, специфическим электрохимическим процессам, инициируемым в мозгу этими химическими каскадами. Для того чтобы вы воспринимали видимый объект, энергия отраженного от него света, прошедшего через хрусталики глаз, должна трансформироваться в химическую энергию, и содержащаяся в световых волнах информация должна быть переведена на язык химической сигнализации, соответствующей субъективному образу объекта.

Для наших идей важным этапом этого процесса трансляции информации – важным потому, что он становится роковым для испытывающих его клеток и, следовательно, для зрения – является непрерывный (почти) цикл превращения двух форм производного витамина А.¹⁴ Палочки и колбочки (светочувствительные клетки глаза) содержат пассивную форму этого вещества (11-*цис*-ретиаль), которая при поглощении энергии поступившего в глаз света химически превращается в активированную форму (*транс*-ретиаль). Эта активированная форма используется как сигнал, приводящий в действие электрохимическую импульсацию зрительного нерва, по которому зрительная информация подается в мозг; после чего в норме активированная форма ферментативным путем превращается обратно в пассивную, готовую для следующего акта поступления света.

Но для любой системы, включающей в себя химически нестабильные компоненты, всегда есть риск, что из-за их реакционной способности испортится химическая регуляция системы. В данном случае *транс*-ретиаль может взаимодействовать с некоторыми жироподобными соединениями,

входящими в состав клеточной мембраны, что сложным путем ведет к образованию стойкого продукта, обозначаемого А2Е. Это вещество совершенно не поддается расщеплению в лизосомах, являясь в них основным источником накапливающегося “неликвидного мусора”. Со временем образуется и поступает в лизосомы так много нерасщепляемого А2Е, что он занимает до 1/5 *общего объема клетки*. К сожалению, такое накопление происходит в клетках, формирующих *пигментный эпителий сетчатки* глаза, обеспечивающий функционирование светочувствительных его зон.

Но опять из-за специальной терминологии (А2Е вместо липофусцина) роль лизосомальной недостаточности оказалась – простите за невольный каламбур! – *неочевидной*.

❧ Проблема токсичных отходов и ее решение

К тому моменту, когда однажды утром 1999 г. я бросал вещи в рюкзак, собираясь в Дрезден на конференцию по свободным радикалам, я уже видел в лизосомальной недостаточности и происходящем в результате накоплении клеточных отходов ключевую стадию, связующую обусловленный мутациями митохондриальной ДНК оксидативный стресс и патологические проявления старения. Вспомним, что в главе 5 я приводил схему распространения токсических веществ от немногочисленных клеток с мутантной митохондриальной ДНК, ко всем прочим клеткам с нормальными митохондриями. Чего я тогда не объяснил – отчасти потому, что еще не был осведомлен – так это того, в чем, собственно, токсичность этих токсических веществ, какой вред они могут причинить, попав внутрь клетки.

Год спустя эта загадка начала проясняться. Было понятно, что (если не цепляться за термин “липофусцин”) неспособность распорядиться определенными отходами лежит в корне наиболее ужасных недугов, сопровождающих биологическое старение: атеросклероза, макулярной дегенерации сетчатки, нейродегенеративных заболеваний (болезни Альцгеймера и др.). Причем *вид* отходов при данном заболевании специфичен как в зависимости от типа клеток, так и от природы заболевания.

В Дрездене Ульф Брунк снова представил свои данные. Слушая его доклад, разглядывая слайды, на которых было видно многозначительное красное свечение липофусцина, и построенные с помощью компьютера графики, иллюстрирующие его и Термана теорию “мусорной катастрофы”, я понял, что нет резона спорить о том, дает ли липофусцин вклад в старение в узком смысле. Ясно было, что, если мы хотим защититься от возрастных патологических изменений, нужен какой-то способ решить эту проблему. Но я также пришел к убеждению, что было бы недостаточно пытаться предотвратить накопление

“мусора”, справляясь с мутациями митохондриальной ДНК, а нужно подойти к нему *непосредственно*.

Но как? Притом, что этот неподатливый материал столь многообразен, а метаболические пути, химические компоненты и даже специфическая роль в патогенезе до сих пор не вполне ясны, казалось невероятным, чтобы сработал какой-то подход по типу “волшебной пули”, т.е. что какое-то индивидуальное вещество послужит определенной лечебной цели. Проблема не решалась просто перекалыванием вины на лизосомы: хотя, как позже показали исследования на животных,^{15,16} усиление активности лизосом или дополнение их ферментного арсенала может замедлить прогрессирование лизосомальных болезней накопления, подходы типа “волшебной пули” не могут окончательно остановить эти заболевания. Суть проблемы в том, что в организме *нет ферментов*, способных расщеплять наиболее ужасные отходы, а значит, они рано или поздно вызовут поражение клеток, ослабление умственной деятельности, ухудшение зрения, закупорку артерий.

Вот Ульф закончил выступление, объявили перерыв, и я вместе с сотней других ученых устремился в холл выпить кофе. Красное мерцание липофусцина на показанных Брунком слайдах навело меня на размышления об этом материале как о токсичном отходе и о стареющих клетках как о крошечных загрязненных единицах окружающей среды, снабженных удручающе неэффективной системой ликвидации и утилизации отходов. Восстановление нормального состояния клетки представилось как разновидность очистки окружающей среды, и казалось необходимым, чтобы существовал щедро финансируемый медико-биологический проект разработки новых лечебных технологий, способных справиться с клеточными материалами, до сих пор ускользавшими от возможностей лизосом.

Щедрый вклад!

До меня вдруг дошло, что эти слова шире своего прямого денежного значения. (Если вы никогда не слышали о таком фонде – “Щедрый вклад”, потерпите, я скоро расскажу.) На свете *существуют* места, обогащенные липофусцином – я говорю о *кладбищах*, почва которых удобрена прахом многих поколений ушедших в мир иной. Только подумайте: сотни тел в земле, иногда в массовых захоронениях, как бывало в Европе во времена Великой чумы или в наши дни, когда где-то происходит геноцид, скажем, в Руанде. В таких местах почва должна быть буквально набита белковыми агрегатами из разлагающихся останков тех, кто нашел там последний приют.

Однако, насколько я мог судить априори в меру своих знаний, на кладбищах нет залежей липофусцина – если бы они были, люди это заметили бы, так как липофусцин флуоресцирует. Через несколько месяцев я обсуждал этот вопрос с кембриджским коллегой Джоном Арчером и он лаконично

возразил: “Почему тогда кладбища не светятся в темноте?”

Наиболее вероятное объяснение тому – действие почвенных микроорганизмов (бактерий, грибов и др). В норме они выполняют важную роль в круговороте веществ, превращая останки живых организмов в компост. Но было неочевидно, что они способны переваривать такие устойчивые к воздействию ферментов вещества, как липофусцин, хотя давно известно удивительное пищевое разнообразие почвенных микроорганизмов.

Ученые заинтересовались питанием обитающих в почве микробов в 1950–х годах, когда было замечено, что концентрации многих с трудом поддающихся деградации вредных для окружающей среды соединений в загрязненных ими местах значительно ниже, чем можно ожидать. По большей части это объяснялось быстрой эволюцией быстро размножающихся организмов вроде бактерий. Любое богатое энергией соединение является собой потенциальный источник пищи – и, таким образом, экологическую нишу – для всякого организма, имеющего ферменты для переваривания этого соединения и использования заключенной в нем энергии. Наличие таких веществ в высоких концентрациях создает, следовательно, мощную эволюционную “тягу”, служащую движущей силой эволюции соответствующих ферментов у контактирующих с этими веществами микроорганизмов. Особенно выражена “тяга”, если энергосодержащее вещество с трудом поддается расщеплению, поскольку в таком случае велика вероятность того, что другие организмы в ближайшем окружении *не* имеют ферментов для его деградации.

В 1952 г. было высказано предположение, что движущие силы в такой ситуации столь велики, что при достаточном запасе времени эволюция может создать микроорганизмы, способные переварить *все*, что содержит атомы углерода и богато энергией в той мере, чтобы служить стоящим источником энергии. Это предположение получило незабываемое название “гипотеза микробной безотказности”. И хотя оказалось, что в ней есть доля преувеличения и пока что не обнаружены микроорганизмы, способные переваривать, скажем, тефлон, тем не менее, исследования, похоже, подтверждают основной ее принцип. Сотрудники Геологической службы США собрали результаты исследований отдельных примеров, показывающие, что микроорганизмы расщепляют значительные количества разнообразных химикатов в сточных водах. Разливы нефти, хлорсодержащие растворители, пестициды – почвенные бактерии научились переваривать почти все, что предоставляют им люди, расщепляя их до безвредных конечных продуктов вроде углекислого газа и воды.

Первые попытки ученых взять эту мощь на вооружение потерпели неудачу, так как они хотели *изобрести* нужные организмы, *имитируя* то, что

природа уже отлично сделала. Наконец, до исследователей дошло, что они все же уступают природным силам (по крайней мере, в скорости). Из этих наблюдений родились *биологические методы* целенаправленной очистки окружающей среды, т.е. использование естественного эволюционного процесса для создания микроорганизмов с новыми пищеварительными способностями.

Потягивая кофе в Дрездене, я продумал весь ход рассуждений, вернувшись к моей первоначальной идее о недостаточности лизосомальной системы ликвидации отходов. Лизосомы *уже* имеют ферменты для расщепления клеточных отходов на их составляющие, но не способны справиться со *всеми* возможными разновидностями “мусора”. А это как раз то, что можно ожидать от эволюционной теории. Вспомним сказанное в главе 3: эволюция создает организмы, способные существовать в своей экологической нише столько, сколько эта ниша позволяет. В эпоху палеолита, когда возник человек, продолжительность жизни людей составляла около тридцати лет – гораздо меньше, чем требуется для того, чтобы липофусцин или атеросклеротические образования накопились до уровня, угрожающего жизни.

По этой причине в ходе эволюции не выработались лизосомальные ферменты для расщепления таких отходов, ведь в этом не было смысла. Но, как мы видели, представляется весьма вероятным, что силы эволюции побуждали к развитию приспособлений для использования новых источников энергии, что являлось задачей повседневного выживания. Это предсказывается эволюционной теорией и гипотезой “микробной безотказности”, а также, по-видимому, подтверждается отсутствием больших скоплений липофусцина в местах массовых захоронений – в противном случае в таких местах наблюдалось бы свечение (не только в фильмах ужасов).

И вот все сошлось. Метафора, порожденная полетом воображения, совпала с конкретными фактами и в свежем дуновении эволюционной теории ярким пламенем вспыхнула у меня в голове. Получалось, что возможна своего рода медицинская ремедиация (биологическая очистка): нужно найти почвенные бактерии, которые справляются с переработанными отходами в *посмертных* останках, выявить соответствующие ферменты – и затем ввести эти ферменты в лизосомы пациента. Этот путь схематически изображен на **рисунке 1**.

Такие ферменты придадут новой мощности клеточным центрам утилизации отходов, расщепляя материалы, оставшиеся прежде переработанными. Тем самым патологическое их накопление не предотвращается, а обращается вспять. Мозг очистится от нейрофибрилярных клубков; умирающие макрофаги в артериях оживут и станут очищать их от токсичных окисленных LDL, так что заживут участки омертвевшей ткани сосудов;

ослепшие прозреют. И по всему организму стареющие клетки, задышающие от собственных отходов, очистятся и будут как новенькие.

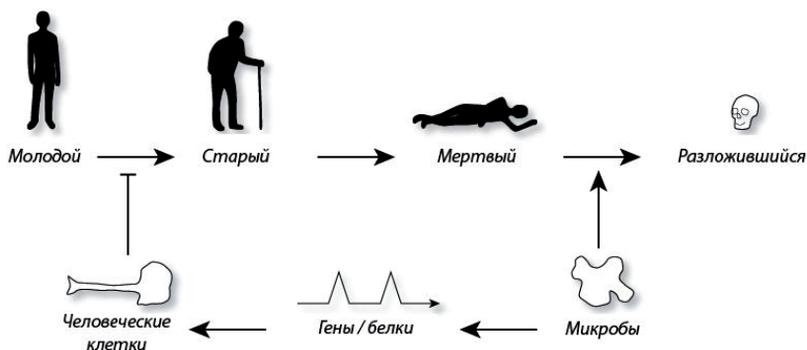


Рисунок 1 Целенаправленная очистка организма с использованием ферментов микроорганизмов, разлагающих останки живых существ, может затормозить многие процессы, превращающие молодого человека в старика и приводящие в итоге к смерти.

Обычно, когда меня осеняет новая идея, я несколько дней стараюсь найти в ней слабые места, прежде чем делюсь ею с кем-либо. Но тут я был абсолютно уверен в своей правоте. Оторвавшись от кофе, я оглядел зал в поисках Брунка. Он стоял в другом конце помещения – полноватый, сидящий, серьезный, но с сочувствующим выражением лица, делавшим его похожим на стареющего деятеля какого-то общественного движения. Я устремился к нему. “Слушай, Ульф, – сказал я торопливо. – Мне пришла в голову совершенно потрясающая идея...”

☞ Проверка на скорую руку

Я был несколько разочарован тем, как Брунк воспринял мою речь, хотя было непонятно, насколько его сдержанность обусловлена оценкой осуществимости дерзкого предложения, а насколько – сумбурностью и непосредственностью моего изложения.

Все же я выжал из него кое-какие мысли о возможностях осуществить некоторые предварительные анализы. Во-первых, мы решили, что нужно получить данные, поддерживающие самый фундамент возведенного мною воздушного замка, а именно, что почвенные микроорганизмы действительно в норме переваривают содержащийся в мертвых телах липофусцин. На

мою удачу, существовал сравнительно прямой способ это проверить: надо было собрать почвенные микроорганизмы в месте, богатом человеческими останками, и посмотреть, будут ли они расщеплять липофусцин в пробирке.

Оказалось, что легкая на первый взгляд часть работы – добыть липофусцин для опытов с кладбищенскими бактериями – на деле почти невыполнима. В большинстве человеческих клеток липофусцин содержится лишь в очень малых количествах, а те ткани, в которых его побольше (например, в сердце), малодоступны и получить их в нужном количестве затруднительно. Но Брунк предложил мне превосходную замену – *синтетический* липофусцин, которым пользуются для исследовательских целей; его получают, просто подвергая митохондрии ультрафиолетовому излучению, которое вызывает образование поперечных сшивок в мембранных белках. Образующийся устойчивый материал флуоресцирует с теми же спектральными характеристиками, что и природный липофусцин, и имеет такие же физические и химические свойства – чего и следовало ожидать, коль скоро липофусцином *как раз* и считаются остатки не подвергшихся деградации митохондрий, поврежденных свободными радикалами и оставшихся разлагаться в лизосомах.

Нужно было также собрать микроорганизмы из почвы, обогащенной липофусцином, и найти среди них тех, которые, по моей гипотезе, его расщепляли. Я мысленно уже скакнул к тому обстоятельству, что Джон Арчер (это он позже пошутил насчет светящихся кладбищ) в Кембридже занимался биологическими методами очистки окружающей среды. Он должен был располагать методиками выделения и культивирования штаммов бактерий, способных переваривать распространенные токсичные отходы, а также идентификации и клонирования генов, обеспечивающих синтез ферментов, создающих эту способность. Если бы я заручился его помощью, то же можно было бы проделать для гидролаз, расщепляющих липофусцин.

☞ Потрошители могил

Мне везло: Джон сразу вдохновился моими идеями и согласился помочь. Так и вышло, что его аспирантка оказалась с лопатой в сумерках догорающего летнего дня на Мидсаммерской пустоши и копала там землю на месте старинного массового захоронения в поисках – нет, не трупов – а крошечных таинственных созданий, наделенных силой превращать неподатливый агрегированный клеточный отход человеческого организма в... компост.

Ощущение погруженности в “готический” ужастик длилось лишь мгновение. Накопав земли и доставив ее в лаборатории, Джон Арчер и его ученица выделили микроорганизмы и поселили их в чашки Петри с синтети-

ческим липофусцином в качестве единственного пищевого ресурса. Затем мы дождались, найдутся ли среди обитателей почвы штаммы, которые благодаря стараниям эволюции выживут на исключительно липофусциновой диете.

Выделенные нами микроорганизмы почти сразу стали флуоресцировать красным светом с характерной для липофусцина длиной волны, что можно было видеть с помощью специального микроскопа. Это еще не означало успех, но свидетельствовало, что микроорганизмы *поглощали* предложенный материал (но необязательно *переваривали*). Скоро выявились четкие различия между разными штаммами. В большинстве колоний клеточный рост задержался, т.е., эти микроорганизмы испытывали нехватку питания. Но несколько колоний прекрасно себя чувствовали на неудобоваримой пище: их число быстро росло, а значит, имевшиеся в этих клетках гидролитические ферменты медленно расщепляли стойкий материал на утилизируемые органические компоненты, разрывая сложные химические связи ради извлечения из них энергии. Через короткое время у нас имелся образец микроорганизмов, обладающих ферментами, переваривающими липофусцин – точно так же, как пищеварительные ферменты в желудке человека переваривают бифштекс.

Гипотеза подтвердилась. Следующей задачей было поместить нужные ферменты в человеческие лизосомы. Этого до сих пор никто не делал, и в некотором смысле ее решение остается на том же уровне, что и по окончании наших с Арчером работ. Слава Богу, для его осуществления (которое теперь буду обозначать LysoSENS) не требуется создавать совершенно новую отрасль медицины. Необходимые технологии уже есть и используются в клинике: для лечения лизосомальных болезней накопления в лизосомы вводят не собственные им ферменты.

☞ Очистка стоков

Лизосомальные болезни накопления, которые, как мы теперь знаем, являются следствием мутаций в генах, кодирующих *нормальный* комплект лизосомальных ферментов, известны давно, задолго до того, как были выявлены их причины. Когда патогенез прояснился, стал очевидным и путь лечения большинства таких заболеваний: *ферменто-заместительная терапия*. Если в организме отсутствует фермент для переработки какого-то отхода обмена веществ, то нерасщепленный материал накапливается в лизосомах (а также в цитоплазме клетки), вследствие чего неизбежно нарушение жизнедеятельности клетки. Предполагалось, что если дать лизосомам соответствующий фермент, то клеточный центр реутилизации отходов ста-

нет нормально функционировать, накопившийся “мусор” будет ликвидирован, и жизнедеятельность клетки вернется к норме – человек выздоровеет.

Теперь, спустя несколько десятилетий упорной работы, жертвы трех из наиболее распространенных лизосомальных болезней накопления успешно лечатся таким путем. Например, на сегодняшний день около 4000 человек с болезнью Гоше восстановили свое нормальное состояние здоровья благодаря регулярному введению лизосомального фермента, который их клетки не способны производить самостоятельно. Разработка лекарства была ясна, хотя и технически сложна. Для ряда болезней удалось идентифицировать ключевой фермент, отсутствие которого обуславливало патологию, и модифицировать его так, чтобы он мог быть введен в организм, поглощен клетками и транспортирован в лизосомы, где функционировал бы в точности как собственный лизосомный белок у здорового человека; в результате симптомы заболевания исчезали, больной обретал способность жить нормально и долго.

С той же фундаментальной проблемой сталкивается каждый человек в случае *долгосрочной* лизосомальной недостаточности: все люди, в конце концов, страдают от *связанных с возрастом* лизосомальных болезней накопления (возрастные дегенеративные расстройства нервной системы, макулярная дегенерация сетчатки, атеросклероз и др.), но лишь очень небольшая доля населения страдает от *наследственных* заболеваний такого рода (болезнь Гоше и т.п.). И хотя первичная причина этих двух групп болезней разная (при наследственных заболеваниях это редкие мутации в генах, кодирующих лизосомальные гидролазы, являющиеся в норме частью “законного” эволюционно сложившегося набора ферментов, а при возрастных нарушениях дело в природном отсутствии ферментов, способных расщеплять нейрофибриллярные клубки, А2Е и т.п.), *молекулярная природа* как наследственных, так и возрастных лизосомальных болезней накопления, по сути, одинакова – что достаточно для цели направленной против старения биотехнологии, а именно для ликвидации накапливающихся молекулярных нарушений. Чтобы достичь этой цели, нам потребуется решить ряд конкретных задач. К счастью, во всех случаях уже есть доступные опробованные подходы, либо решения очевидны и разрабатываются в других областях медицинской биологии.

☞ Первая задача: идентификация подходящих ферментов

Наше “раскапывание могил” на Мидсаммерской пустоши доказало, что существуют ферменты для деградации остатков митохондрий с высоким уровнем поперечных сшивок (основной источник липофусцина). Однако

мы пока не знаем точно, какой фермент или какая цепочка ферментов делает это. Хуже того, ферментов, расщепляющих синтетический липофусцин, будет недостаточно: требуется также идентифицировать другие ферменты, участвующие в переработке забивающих лизосомы отходов, в различных тканях и в связи с различными патологическими состояниями.

Это не обязательно ферменты, способные расщеплять любые известные агрегаты, например, нейрофибрилярные клубки. Как говорилось выше, наблюдаемые агрегаты могут и отличаться от тех, что послужили причиной расстройства, как дым от выстрела отличается от самого ружья. Например, возможно, что какой-то другой отход обуславливает дисфункцию, а накапливающиеся, как мусор на улице, агрегаты являются просто следствием неспособности лизосом справиться с обычной нагрузкой. Собственно говоря, дело может быть и вовсе не в присутствии не поддающегося деградации материала: в отношении некоторых заболеваний имеются данные, свидетельствующие, что дисфункция обусловлена тем или иным веществом (например, А2Е при макулярной дегенерации сетчатки), которое непосредственно подавляет активность мембранного насоса, поддерживающего в лизосомах достаточно кислый рН, что необходимо для функционирования содержащихся в них ферментов.

На удачу, здесь можно воспользоваться уже имеющимися достижениями. Наша задача не в том, чтобы распутать детали обмена веществ, а в том, чтобы ликвидировать связанное с возрастом нарушение. И резонно следовать примеру специалистов по целенаправленной биологической очистке: бросить на решение проблемы ферменты, а когда она будет решена (т.е. восстановлено функционирование лизосом), идентифицировать задействованные в том ферменты. В принципе, это несложно – но 30 лет назад, когда целенаправленная биологическая очистка только зародилась, пришлось немало потрудиться, чтобы среди сотен микробных ферментов выявить ответственные за расщепление определенных отходов.

Одной из причин моего оптимизма является тот факт, что уже тогда *был достигнут* значительный прогресс, а ведь сегодня в нашем распоряжении гораздо более совершенные молекулярные инструменты. Например, метод, известный под названием молекулярных отпечатков пальцев. Правда, этот термин может ввести в заблуждение, так как предполагает, что находят индивидуально специфический идентификатор (подобный отпечаткам пальцев) и выявляют объекты, несущие его. А метод молекулярных отпечатков пальцев основан на том, что у близко родственных организмов гены имеют сходные нуклеотидные последовательности и что в пределах группы родства гены, кодирующие ферменты со сходными функциями, также сходны по нуклеотидной последовательности.

Это позволяет вести поиск генов с двух позиций. С одной стороны, рассматривают класс ферментов, кодируемых искомыми генами (в данном случае гидролаз), и ищут гены, отвечающие их общей структуре и экспрессирующиеся в больших количествах, когда организм питается содержимым нефункциональных лизосом. С другой стороны, в пределах группы родственных организмов идентифицируют те, которые лучше прочих чувствуют себя при питании только этим материалом и которые, следовательно, имеют гены, кодирующие наиболее эффективно расщепляющие этот материал ферменты.

Еще один мощный инструмент – *микробблиотеки ДНК, генные чипы*, позволяющие установить в реальном времени, какие гены экспрессируются в организме в данный момент. Выделив штаммы микроорганизмов, способные питаться остатками лизосом, мы сможем определить нуклеотидные последовательности их генных библиотек и установить, какие из этих генов активны при питании этим материалом.

Есть еще метод “*нокаута*”: у микроорганизмов удаляют определенные гены, после чего вновь проверяют их способность существовать на “лизосомной” диете. Если после удаления одного из генов штамм утрачивает способность питаться материалом, ранее с успехом использовавшимся в пищу, то можно заключить, что данный ген кодирует белок, важный для переваривания этого материала. Затем эти гены надо идентифицировать и посмотреть, будут ли кодируемые ими ферменты критичны для дополнения человеческого арсенала гидролаз.

☞ Задача вторая: попасть в клетку

Получив нужные ферменты, мы должны будем найти способ ввести их в клетки, которым они требуются. В клетках разных типов и отходы могут быть разными: как указывалось выше, определенные патологические состояния характеризуются накоплением специфических отходов, образующихся специфическими метаболическими путями (это особенно относится к накоплению А2Е при макулярной дегенерации сетчатки). Конкретный способ решения этой задачи зависит от пути введения ферментов в организм, и тут есть много вариантов.

Например, лизосомальные болезни накопления лечат внутривенным введением модифицированных форм отсутствующих лизосомальных ферментов. От присутствия ферментов в кровотоке мало толку и даже возможен вред, если фермент активен и атакует функциональные белки; поэтому необходимо сделать так, чтобы ферменты попали куда надо. Во-первых, они должны быть нацелены на определенные клетки. Так, при болез-

ни Гоше от вызывающего заболевание отсутствия определенного фермента особенно страдают *макрофаги*. Поэтому к ферменту прицепляется направляющий молекулярный агент, узнаваемый макрофагами и играющий роль пропуска внутрь этих клеток. Тот же прием может быть применен, чтобы нацеливать ферменты, нужные для очистки клетки от веществ, обуславливающих лизосомальную недостаточность макрофагов при атеросклерозе.

Этот метод обладает тем преимуществом, что его относительно легко осуществить и притом скоро; он уже применяется для некоторых идентифицированных заболеваний (так что имеется довольно обширный клинический опыт применения основной методики). Однако у него есть и различные ограничения. Одно из них состоит в том, что его трудно использовать для переноса ферментов через *гематоэнцефалический барьер*, представляющий собой высокоэффективный механизм защиты мозга от контакта со многими потенциально вредными веществами, присутствующими в крови. Ясно, что, если введенные ферменты не могут проникнуть в мозг, то пользы от них маловато, а для лечения возрастных дегенеративных заболеваний нервной системы и вовсе никакого толку. У страдающих болезнью Гоше иногда развиваются неврологические осложнения вследствие ферментативной недостаточности, а введение гидролаз помогает им слабо.

К счастью, есть некоторые успехи в поисках путей переноса белков через гематоэнцефалический барьер, так что в будущем, надо думать, появятся гораздо более эффективные системы доставки. Сравнительно скоро станет возможной разновидность *клеточной терапии*, включающая введение больному клеток, производящих нужные ферменты и секретирующих их в кровяное русло или в тканевую жидкость.¹⁷ Этот подход, аналогичный лечебному пластырю (например, никотиновому), непрерывно выделяющему лекарственное вещество (в данном случае фермент), был бы исключительно ценным. В настоящее время для лечения лизосомальных болезней накопления делают регулярные инъекции опасных доз требуемого больному фермента, а если ферментов нужно несколько (чтобы противодействовать всем типам лизосомальной недостаточности, связанной со старением или возрастным заболеванием), то введение таких количеств может оказаться нереальным. Ферментов нужно много потому, в частности, что часть из них – протеазы (т.е. расщепляют белки), но сами ферменты – это тоже белки, так что протеазы в лизосомах на деле расщепляют себя и друг друга.

Конечно, в идеале надо было бы человеческие клетки модифицировать путем соматической генной терапии, т.е. ввести ДНК, обеспечивающую синтез недостающих ферментов в нуждающихся в них клетках. Но это, как и клеточная терапия, еще далеко от клинического применения против старения. Правда, основные трудности будут преодолены сначала для лечения

лучше изученных расстройств, в частности серповидноклеточной анемии и тяжелого комбинированного иммунодефицита (новорожденных с последним заболеванием приходится держать в стерильных условиях). Можно рассчитывать в некоторой степени “повиснуть на хвосте” этих исследований. В самом деле, раз уж соматическую генную терапию можно применить для лечения относительно распространенных генетических нарушений, ею, без сомнения, поспешат воспользоваться и те, кто ищет пути лечения лизосомальных болезней накопления – для замены генов, кодирующих недостающие гидролазы. Специфическая генная терапия для страдающих лизосомальными болезнями накопления станет ценным источником информации и сотрудничества для разработки методов генной терапии в рамках проекта “LysoSENS”.

☞ Задача третья: попасть в лизосому

Эта задача сходна с вышеописанной второй: лизосомальные ферменты не принесут пользы и даже могут причинить вред, будучи введены в испытывающие их нехватку клетки (или синтезированы там – в случае генной терапии), но локализованы не в лизосомах, где накапливается данный отход и где среда достаточно кислая для их нормальной активности. Тут тоже потенциальное решение уже используется при лизосомальных болезнях накопления: сахар манноза–6–фосфат, узнаваемый и поглощаемый (вместе с прицепленным к нему “грузом”) лизосомами.

И снова мы учимся прятать карты в рукав. Нам нужно использовать существующую систему адресной доставки, обеспечивающую поступление в лизосомы *отходов*, так, чтобы она доставляла туда же *ферменты*. (Эта система называется *аутофагией*, *опосредуемой шаперонами*.) Так же, как лизосомы поглощают различный клеточный “мусор”, они станут включать в себя нужный фермент – гидролазу, способную сохранить и восстановить их нормальное функционирование.

Можно было бы также воспользоваться преимуществом системы адресной доставки, уже имеющейся в организме, из которого выделили нужный фермент. Для целенаправленной биологической очистки окружающей среды обычно используются бактерии, так как эти микроорганизмы быстро переваривают свою пищу. Грибы же считаются слишком медленными – как в питании, так и в росте, – чтобы обеспечить практичное решение проблемы нефтяных разливов или загрязнения среды выбросами химикатов. Но при возрастной лизосомальной недостаточности токсичные отходы накапливаются медленно и в относительно небольших объемах, так что скоростные качества не очень важны. А грибы выгодны тем, что у них, как и у челове-

ка (но не как у бактерий) есть собственные подобные лизосомам структуры (называемые *вакуолями*), по многим важным свойствам сходные с соответствующими органеллами человеческих клеток (включая, например, необходимость в кислой внутренней среде для нормального функционирования). “Трибные” ферменты могут уже обладать свойствами, полезными для осуществления “LysoSENS” у людей.

❧ Задача четвертая: возможные побочные эффекты

Даже если у нас есть способы доставить нужные ферменты в лизосомы пораженных клеток, остается существенная проблема – не допустить, чтобы это вмешательство причинило вред. Начать с того, что вводимые ферменты могут, как отмечалось ранее, проявить свою активность не только в лизосомах. Но этого можно особо не опасаться, так как (и о том неоднократно уже говорилось) лизосомальные ферменты активны в кислой среде, а значит, их активность в цитоплазме клетки будет, вероятно, очень незначительной.

Кроме того, можно так модифицировать фермент, чтобы он активировался только внутри лизосом. Такая модификация может состоять в присоединении дополнительной последовательности аминокислот, не дающей белку проявлять свою ферментативную активность и отщепляемой внутри лизосом находящимися там активными ферментами. Таким образом, активная форма фермента будет существовать только в лизосомах. Звучит замысловато, но этот подход должно быть не слишком трудно осуществить, так как он от природы реализуется в человеческих клетках для безопасной доставки некоторых белков из нормального набора лизосомальных ферментов.

Еще одним поводом для беспокойства является то, что вводимый фермент может вызвать иммунный ответ (как любой чужеродный белок). Но опыт лечения лизосомальных болезней накопления позволяет полагать, что эта проблема не столь велика, как можно было бы ожидать. Вспомним, что для индивида, от рождения неспособного производить гидролитические ферменты, эти белки столь же чужеродны, как микробные гидролазы для здорового человека. В норме в организме вырабатывается толерантность к собственным белкам, поскольку иммунная система имеет с ними дело, начиная с ранних стадий внутриутробного и раннего постнатального развития, так что организм воспринимает их как свои. При лизосомальных болезнях накопления в силу отсутствия некоторых генов не синтезируются кодируемые ими белки и иммунной системе эти белки не представлены, поэтому иммунологической толерантности по отношению к ним нет. У таких больных действительно наблюдаются иммунные реакции, правда, они всег-

да умеренные и со временем сходят на нет. По-видимому, это объясняется так: при ферментозаместительной терапии ферменты доставляются в лизосомы таким образом, что клетка не может их представить на своей поверхности, а это необходимо для иммунного ответа.

Более того, даже если осуществляется не ферментозаместительная терапия, а генная терапия или аутофагия с участием шаперонов, появление нового фермента в организме не станет опасным. Многие медицинские вмешательства (трансплантация органов, противоаллергические препараты и др.) включает подавление избыточного иммунного ответа, и это не вредит здоровью. Можно сделать так, чтобы нужный фермент синтезировался в костном мозге (так уже поступали в случае некоторых лизосомальных ферментов), тогда в силу самой роли этой ткани в иммунной системе должна развиться толерантность.

☞ Внутри и снаружи

Как видим, чтобы воспользоваться новыми гидролитическими ферментами для очистки клеток от “мусора”, что предотвратит или обратит многие из наиболее разрушительных расстройств здоровья в пожилом возрасте, придется преодолеть некоторые сложности. Но, как я показал вам, на случай каждой из этих сложностей имеются вполне реализуемые решения, которые либо уже применяются для лечения известных (врожденных) лизосомальных болезней накопления, либо коренятся в других интенсивно разрабатываемых областях. Если идентифицированы нужные ферменты, то не за горами лечебные методы первого поколения по типу ферментозаместительной терапии лизосомальных болезней накопления – лечение дорогое, не очень-то удобное и с ограниченными возможностями, но все же спасительное. По мере прогресса в генной терапии и других технологиях, применяемых при лизосомальных болезнях накопления, эти методы постепенно усовершенствуются, станут более объемлющими, безопасными и эффективными.

Путь к этим решениям, как и во многих других случаях, зависит от междисциплинарного синтетического подхода в областях науки, вроде бы мало имеющих отношение к старению. Ясно, что тут нужны вложения частного и общественного капиталов, особенно в собственно биogerонтологических исследованиях, которые испытывают острую нехватку как финансирования, так и интеллектуальных затрат, и без которых величайший убийца современного мира будет по-прежнему находить жертвы, мучить и убивать множество людей каждый день, час, минуту.

Давайте теперь перейдем от внутриклеточного “мусора” к агрегированному материалу на поверхности клеток: оценим степень его вредоносно-

сти; подумаем, что с ним можно поделать; разберемся, каким образом он угрожает здоровью человека и как он связан с рассмотренной нами проблемой лизосомальной недостаточности.

Очистка клеток от паутины



Наши клетки – а, следовательно, наши организмы в целом – постепенно повреждаются белковым по происхождению мусором, который годами копится в межклеточном пространстве. Лучшее всего известна связь с такой грязью – или, если угодно, паутиной – болезни Альцгеймера, однако можно назвать и другие не менее летальные патологии. К счастью, для медицины и нашего здоровья здесь далеко не все потеряно: недавние весьма обнадеживающие исследования демонстрируют, что мы в силах натравить свою иммунную систему на эту опасную накипь.

✂ В ПРЕДЫДУЩЕЙ ГЛАВЕ ГОВОРИЛОСЬ О МУСОРЕ, который с возрастом скапливается *внутри* наших клеток – о том, как способствует процессу биологического старения и что можно сделать для расчистки этих завалов. Сейчас мы обратимся к грязи, собирающейся *снаружи* наших клеток и тканей, опутывающей их паутиной нефункциональных белков и затрудняющей нормальную работу организма. Очевидно, она тоже способствует старению и развитию возрастных патологий.

Речь пойдет главным образом о том или ином типе *амилоида*. Естественно, сталкиваясь с этим термином, почти каждый вспоминает о *бета-амилоидном белке* (известном также как “амилоид бета”), который образует похожие на капельки воска “сенильные бляшки”, накапливающиеся вокруг кле-

ток головного мозга у людей с болезнью Альцгеймера. Однако с аномальными белковыми агрегатами такого типа связаны и многие другие, менее известные заболевания (*амилоидозы*). Большинство амилоидов – это опутывающие клетки цепочки молекул, начинающие свое существование как нормальные белки, естественным образом присутствующие в нашей крови или омывающей мозг цереброспинальной жидкости (ликворе). При определенных условиях амилоидами становятся различные их компоненты, включая *легкие цепи иммуноглобулинов* (входящие в состав антител нашей иммунной системы), *транстретин* (белок, транспортирующий в крови вырабатываемые щитовидной железой гормоны) и *островковый амилоидный полипептид*, известный также как *амилин* (короткий белок, который вместе с инсулином помогает нам поддерживать в крови оптимальный уровень сахара).

Будут эти белки функциональными или превратятся в тенета, выжимающая жизнь из наших клеток и органов, зависит от того, как *свернуты* их молекулы. Неправильная пространственная конфигурация белковой цепочки может превращать ее в бесформенный комок, способный к токсичным взаимодействиям с аналогичным мусором или другими клеточными компонентами. Белки, вызывающие амилоидозы, содержат участки, которые, оказавшись по какой-то причине на поверхности молекулы, легко “прилипают” к другим, тоже испорченным, белкам, в результате чего начинает самостоятельно расти их зловещая паутина. В норме эти “липкие” места надежно упакованы *внутри* замысловатой трехмерной структуры, поэтому таких патологических взаимодействий не происходит. Неправильное свертывание молекулы обнажает ее зоны, запускающие самосборку амилоидной сети, удушающей клетки.

Многие амилоидозы – результат присутствия у их жертв дефектных генов, обуславливающих появление опасных белковых продуктов. В некоторых случаях мутация изменяет состав, а в результате и конфигурацию полипептидной цепочки, открывая для взаимодействий ее пресловутые “липкие” участки. Могут также происходить мутации в генах, кодирующих ферменты, которые в норме разрезают полипептид (“процессируют” его) на функциональные единицы, необходимые для сборки необходимых нам молекул. В результате разрезание происходит, скажем, слишком близко к опасным местам, которые опять же выходят из-под контроля окружающей третичной структуры. Еще один путь патогенеза врожденного амилоидоза – ошибки при синтезе белков-*шаперонов*, помогающих потенциально амилоидогенным полипептидам принять безопасную (неамилоидогенную) пространственную конфигурацию.

Однако, помимо этих *наследственных* патологий свертывания белковых молекул, существуют *универсальные* амилоидозы, причина которых

не в мутациях, а в принципиальной способности нормально работающих белков постепенно портиться в молекулярном водовороте клеточной биохимии. Испытывая непрерывное воздействие свободных радикалов, сахаров (да-да, сахаров, см. гл.9) и вибраций, белки то и дело слегка теряют форму – “приоткрываются”, становясь зародышами амилоидной паутины. Испорченная молекула, цепляясь за окружающие нормальные белки, может в свою очередь деформировать их настолько, что обнажаются все новые “липкие” места, обеспечивающие самосборку амилоидного материала. Пример быстрого протекания такого процесса – почечная недостаточность, связанная с неспособностью организма выводить с мочой *бета-2-микроглобулин*. В норме это абсолютно безопасный белок, помогающий организму отличать “свои” клетки от “чужих” – бактерий и прочих микроорганизмов. Однако без регулярного выведения бета-2-микроглобулина из крови его уровень там непрерывно растет, и со временем концентрация становится достаточно высокой для запуска самопроизвольного слипания этих молекул с образованием амилоидных отложений.

По мнению кембриджского профессора Криса Добсона, всю жизнь изучающего болезни неверного белкового свертывания, “в определенных условиях, по-видимому, *любой* белок [курсив мой] способен давать амилоидные фибриллы, ... хотя тенденция к образованию таких структур при конкретных обстоятельствах, сильно зависит от его природы”¹. Со временем эти фибриллы накапливаются до потенциально патологического уровня, оплетая наши клетки и органы, заглушая их, как повилика огородные грядки.

☞ Оковы интеллекта

Большинство исследователей считает сейчас, что все ужасы болезни Альцгеймера объясняются главным образом аномальным процессингом (разрезанием ферментами) вполне нормальной молекулы, известной как *белок-предшественник амилоида* (БПА). Это вещество образуется в головном мозгу каждого человека и необходимо для *какой-то* жизненно важной функции. Похоже, в частности, что правильно процессированный БПА нужен нейронам для многих ключевых форм их активности, включая перестройку клеточных связей в процессе нашего обучения (накопления информации) и отращивание ветвящихся “проводов” (*нейритов*) для общения с другими нервными клетками.

В норме БПА синтезируется в цитоплазме нейрона, а затем процессируется ферментом из группы *эндопептидаз – альфа-секретазой*². В результате

получаются две молекулы, одна из которых остается в мембране нейрита, а вторая высвобождается во внутриклеточную жидкость. Альфа-синтегезный процессинг БПА *не может* привести к образованию вредного бета-амилоида. На следующем этапе один из образовавшихся полипептидов перерезается другим ферментом – *гамма-секретазой*.

БПА становится опасным только тогда, когда по ошибке разрезается не альфа-секретазой, а другим, родственным ферментом – *бета-секретазой*³. Бета-секретаза, как и БПА, сама по себе не вредна: у нее свое место в клеточной “фабрике” – это часть ее *другого* сборочного конвейера. На нем этот фермент в норме разрезает не БПА, а похожие на него по молекулярной структуре *другие* белки. Однако бета-секретаза может так же действовать и на БПА – разрезать его, хотя и не там, где надо. В результате конформация конечного белка меняется – образуются молекула с совершенно иным поведением внутри клетки.

Ситуация примерно такая: очень ответственный и полезный фабричный рабочий бета-секретаза идет по цеху, возвращаясь, скажем, с обеденного перерыва, видит лежащий на стоящем конвейере БПА и считает, что это непорядок. Оглядевшись и не увидев поблизости альфа-секретазы, бета-секретаза решает оказать услугу товарищу, выполнив часть его задания – благо сама она всю жизнь рубит этот БПА. Сверхусердный фермент отделяет от него часть молекулы – немного неправильной формы – и бросает ее назад на конвейер, несущий фрагменты БПА на дальнейшую обработку к гамма-секретазе. Та в свою очередь слишком занята, чтобы заметить разницу: она рубит дефектный кусок БПА точно так же, как результат *правильной* модификации исходного белка альфа-секретазой. Бета-амилоид и является результатом этой неверной последовательности операций: последовательного процессинга БПА не альфа- и гамма-, а бета- и гамма-секретазами.

При адекватной обработке БПА его средний фрагмент (между местами разрезания альфа- и гамма-секретазами) принимает форму, напоминающую растянутую пружину. Эта конформация называется *альфа-спиралью*. Неуместное вмешательство бета-секретазы (при невольном соучастии гамма-секретазы) ведет к появлению аномальной пространственной структуры. Представьте себе, что вы разрезали сильно растянутую пружину ножницами: ее фрагмент может резко сжаться, превратившись в нечто похожее на многократно согнутую шпильку (*бета-слой*). Именно это придает бета-амилоиду роковую молекулярную *липкость*, характерную для амилоидных белков.

Высвобожденные гамма-секретазой бета-амилоидные фрагменты (*номеры*) сначала свободно плавают внутри головного мозга. Рано или поздно они сталкиваются друг с другом и благодаря своей “липкости” соединя-

ются в более крупные – но пока еще подвижные – агрегаты, называемые *олигомерами*. Эти волокна в свою очередь склеиваются между собой во все более длинные разветвленные фибриллы, которые в конечном итоге уже не могут оставаться растворенными в ликворе и, выпадая в осадок между нейронами, образуют те самые сенильные бляшки. Под микроскопом бывает видно, как эта опутывающая наш интеллект паутина распространяется на вспомогательную часть нервной ткани (*глиальные клетки*) и нейриты (проводящие отростки, о которых говорилось выше).

У некоторых людей образуется необычно много бета-амилоида – из-за врожденных мутаций, ведущих либо к образованию слишком больших количеств собственно БПА (т.е. к повышению шансов на его неправильный процессинг с формированием липких бета-слоев), либо к синтезу дефектных секретаз, которые справляются с избирательным раскромом БПА хуже, чем их нормальные варианты. Однако поскольку в организме *каждого* из нас присутствуют и БПА, и ферменты, время от времени превращающие его в бета-амилоид, мы *все* производим эту липкую грязь. А поскольку она образуется постоянно, накопление ее до критической концентрации, ведущей к выпадению осадка в виде бляшек альцгеймеровского типа – всего лишь вопрос времени. И действительно, к старости у всех людей в головном мозгу присутствует хотя бы некоторое количество таких сенильных бляшек.

Таким образом, речь идет об очередном неизбежном возрастном изменении, и резонно предполагать, что, заходя достаточно далеко, оно вызывает определенные неврологические проблемы. Вероятно, именно поэтому в большинстве случаев болезнь Альцгеймера не наследственная, а возникает спорадически среди генетически нормальной популяции: лежащие в ее основе биохимические процессы – неотъемлемая часть человеческого метаболизма. Факторы риска, вытекающие из образа жизни и генетической предрасположенности, просто ускоряют появление заметных нарушений нашего интеллекта и связанный с ними распад личности ⁴. Исходя из вышесказанного, понятно также, почему, если не считать крайне редких наследственных случаев, когда эти нарушения развиваются в сравнительно раннем возрасте, болезнь Альцгеймера почти никогда не диагностируется у людей моложе 50... и почему после 65 заболеваемость ею каждые пять лет *удваивается*, а в результате число ее жертв по мере старения очередного поколения увеличивается подобно рисовым зернам на шахматной доске из старинной притчи. Мозг каждого человека медленно, но верно опутывается сетью бета-амилоидных бляшек. Рано или поздно их количество достигает уровня, не позволяющего больше вести достойную жизнь и сохранять свою уникальную личность – лишаящего нас ценностей, над созданием которых мы работали долгие годы. Если не появится какого-нибудь радикаль-

но нового терапевтического метода, *каждый из нас* обречен на вызванное болезнью Альцгеймера слабоумие, если, конечно, не умрет до его наступления от какой-нибудь другой напасти.

“Пленен, опутан, дважды скован...”

Бета-амилоид вызывает также поражение головного мозга и смерть у многих людей, не страдающих болезнью Альцгеймера. Дело в том, что бета-амилоид накапливается в мозгу не только вокруг *нейронов*, но и налипает на внутреннюю поверхность *кровеносных сосудов*. Развивается так называемая *церебральная амилоидная ангиопатия* (ЦАА), при которой эти трубопроводы, доставляющие тканями кислород и питательные вещества, обрастая своего рода накипью, снижают прочность и эластичность – способность растягиваться в такт с пульсовыми волнами. В результате резко повышается риск их разрыва и кровоизлияния в мозг, т.е. геморрагического инсульта.

Безусловно, ЦАА особенно часто встречается у людей с болезнью Альцгеймера (примерно у четверти пациентов наблюдается такое ее осложнение), однако с возрастом она начинает представлять все большую опасность и для тех, у кого *нет* никакого старческого слабоумия. После 70 доля страдающих ЦАА составляет всего лишь 5%, зато после 90 – более 50%. Эта патология является причиной примерно 15% геморрагических инсультов у людей старше шестидесяти.

Однако приготовьтесь к худшему. Бета-амилоид – лишь один из многих белков с нарушенной конформацией. Существуют и другие возрастные амилоидозы, менее известные и реже признаваемыми причинами смерти и инвалидности, но также, по всей видимости, обусловленные не *наследственным* дефектом белковой структуры, а повреждением ее нормального варианта в далекой от идеала биохимической среде нашего организма. Один из примеров – *старческий (сенильный) сердечный амилоидоз*. Как вы догадываетесь, эта патология характеризуется накоплением амилоидных фибрилл в сердце, хотя поражаются также легкие, печень и почки. Белковая “накипь” мешает сердцу нормально сокращаться и может привести к его недостаточности. Липкие фибриллы образуются из упоминавшегося выше *транстиретина* – своего рода рикши, оставляющего к месту назначения гормоны щитовидки. Причиной нарушения его пространственной структуры может быть как генная мутация, так и (более медленное) повреждение нормального варианта этого белка-переносчика.

Как следует из названия болезни, старческий сердечный амилоидоз – типичная возрастная проблема: первые белковые отложения наблюдаются

после 70, а их патологический уровень отмечается у четверти людей старше девяноста. Как и в случае болезни Альцгеймера, если бы все мы жили достаточно долго, сердце каждого из нас задыхалось бы от амилоидной накипи. Эта болезнь считается обычнейшим фактором, способствующим смерти самых старых: примерно у половины скончавшихся после 90 такая форма амилоидоза диагностируется при вскрытии.

Гораздо раньше почти у каждого из нас развивается та или иная степень амилоидоза *аорты*, главной отходящей от сердца артерии. В его патогенезе участвуют два белка: один из них накапливается в самом внутреннем слое сосудистой стенки (у 97% людей старше 50), а другой – в ее среднем слое (примерно в трети случаев). Обычно этот амилоидоз не считается причиной специфической патологии или смерти, но опять же, скорее всего, достижение критического уровня белковых отложений – лишь вопрос времени. Просто при современной продолжительности жизни мы не достигаем соответствующего ему возраста, поскольку умираем раньше по какой-нибудь другой причине.

В любом случае амилоидные отложения из неправильно свернутых белков в сердце существенно способствуют старческой смертности, вызывая аритмии, ослабление миокарда, перебои в электрической активности, индуцирующей его сокращения, и сердечную недостаточность.

Однако амилоиды накапливаются не только в мозгу и сердечно-сосудистой системе. У каждого из нас к 80 микроскопические белковые отложения можно обнаружить в самых различных тканях по всему телу. Их конкретный вред оценить трудно: вскрытие глубоких стариков производится редко, а увидеть эту накипь без него попросту невозможно. Отсутствие интереса к причинам смерти долгожителей – наглядная иллюстрация нашего рутинного признания патологической природы процесса старения, особенно у тех, кто прожил всего лишь на несколько лет дольше, чем положено среднестатистическому человеку.

Более того, хотя данные тут еще только предварительные, но, похоже, амилоидоз той или иной системы органов является весьма существенным фактором, объясняющим угасание людей, достигающих пределов нынешней “естественной” продолжительности жизни. Интересны в этом смысле наблюдения, сделанные в Японии, где наличие нескольких “горячих точек” с необычно высоким процентом доживающих до ста и больше вызывает необычный для современной науки интерес к конкретным причинам смертности в столь почтенном возрасте. Анализ результатов вскрытий, проведенный в Медицинском центре префектуры Айти с 1989 по 1995 показал охватывающую весь головной мозг ЦАА у 16 из 19 перешагнувших столетний рубеж покойников⁵. К сожалению, это исследование касалось только цен-

тральной нервной системы, так что не дает информации о том, насколько ослабляют организм должителей другие амилоидозы и в какой мере они могут способствовать их смерти⁶.

Еще более впечатляющи предварительные данные, получаемые недавно основанным Фондом изучения сверхстолетних^{3*},⁷ который прикладывает огромные усилия, выявляя крайне немногочисленных людей, проживших более 110 лет, и убеждая их пожертвовать после смерти свои бранные останки науке. Из шести исследованных на сегодняшний день покойников этого возраста *четверо* скончались от той или иной формы амилоидоза (двое стали жертвами рака)⁸.

Пока мы не знаем, к каким патологическим последствиям могут привести многие из амилоидных отложений, однако практически не остается сомнений, что все они вредны для здоровья. Иными словами, их следует считать возрастной патологией, поскольку у молодых людей они не встречаются. Следовательно, как вы уже догадались, у меня возникает сильнейшее желание очистить человеческий организм от этой незаметной грязи – как и от тех форм амилоидов, которые *уже* признаны виновниками специфических возрастных болезней.

☞ Альцгеймер, амилоиды, старение

По иронии судьбы, широкое распространение и всеобщая боязнь болезни Альцгеймера весьма способствовали развитию биомедицины противодействия старению в целом. Пристальное внимание к этой специфической возрастной патологии вместе с убеждением большинства профессионалов и публики в том, что одной из главных причин ее развития и прогрессирования являются бета-амилоидные бляшки, заставили ученых рассматривать борьбу с этими отложениями как самостоятельную терапевтическую задачу. Результатом стал поиск методов, которые потенциально могут лечь в основу очистки от внеклеточных амилоидных белков всего человеческого организма. Как и в других, обсуждавшихся в предыдущих главах случаях, существование *общепризнанной* болезни, вызываемой возрастным повреждением тканей, “узаконило” интенсивную разработку методов ее лечения. Очевидно, накапливаемые в этой области успехи существенно облегчат биотехнологам задуманную атаку на процесс старения в целом.

Альцгеймеровское слабоумие – особенно наглядный пример такой “полезной” для противовозрастной науки патологии, поскольку она, во-первых, действительно, страшна, а во-вторых, достаточно обычна у старшего поколения – в отличие от таких редких и быстро ведущих к смерти расстройств,

как митохондриопатии и лизосомные болезни накопления. Взрывообразный рост числа ее жертв, связанный с увеличением продолжительности жизни людей, заставил родных и близких пациентов создать влиятельные объединения. Сейчас в США и других странах тысячи людей организовано *требуют* от правительств выделения огромных интеллектуальных и финансовых ресурсов на поиск эффективной антиальцгеймеровской терапии. (Плохо это или хорошо, но исследования в этом направлении уже съедают больше половины бюджета Национального института старения в Бетесде.)

Когда возобладали взгляд на бета-амилоид как на ключевой элемент болезни Альцгеймера, специалисты по ней впервые (возможно потому, что не были биогеронтологами?) начали смотреть на эту форму внеклеточного мусора с тех же позиций “обратимости патогенеза”, что характерны и для инженерного подхода к возрастной патологии в целом. Сейчас пациентам с болезнью Альцгеймера предлагается чисто симптоматическая помощь: к сожалению, ни один из существующих методов не в силах остановить собственно *дегенерацию* головного мозга (см. врезку “Современное лечение болезни Альцгеймера”). Иными словами, прием лекарств облегчает страдания человека, но не мешает прогрессировать подтачивающей его патологии. Ситуация сравнима с назначением, скажем, диабетикам ибупрофена и антидепрессантов: невропатические боли, которые часто их мучают, действительно, слабеют, однако сами нервы продолжают разрушаться типичным для этой болезни процессом “карамелизации”. (В гл.9 вы познакомитесь с нашим принципиальным подходом к возрастной форме сахарного диабета.)

СОВРЕМЕННОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА



Сейчас для лечения этой болезни шире всего применяются ингибиторы холинэстеразы, например донепезил (Арицепт), ривастигмин (Экселон) и средство растительного происхождения галантамин (Реминил/Разадин). Они призваны поддерживать работу головного мозга, повышая в нем уровень сигнального вещества (нейромедиатора), связанного с некоторыми угасающими аспектами памяти. Естественно, это действие чисто паллиативное, не влияющее на прогрессирование самой болезни. Согласно результатам недавнего исследования⁹, они даже менее эффективны, чем считалось ранее. Их использование позволяет пациенту лучше справляться со стандартными тестами на определенные аспекты мозговой деятельности, но не сказывается на его *приспособленности к реальному миру*, утрата которой вынуждает семью изолировать такого родственника в стационаре.

Некоторое время большие надежды связывались с появившимся позднее медикаментом под названием мемантин (Наменда). Казалось, что он как минимум *замедляет* прогрессирование болезни Альцгеймера, защищая нейроны от вредного воздействия другого нейромедиатора (глутамата), избыток которого может убивать эти клетки. Однако недавнее испытание мемантина¹⁰ дало неутешительные результаты. В этой работе сравнивались пациенты, принимавшие его в течение полугодового эксперимента с плацебо-контролем и продолжавшие делать это еще шесть месяцев, с теми, кто сначала получавшие плацебо, а в следующие полгода перешедшие на настоящее лекарство. Если бы мемантин действительно тормозил патологический процесс, первая группа испытуемых была бы к концу исследования в лучшей форме, чем вторая: развитие болезни шло бы у нее медленнее на полгода дольше, а значит, мозговые функции пострадали бы меньше. Однако выяснилось обратное: начав принимать лекарство, вторая группа быстро улучшила свои интеллектуальные показатели, догнав по ним первую, несмотря на большую разницу в продолжительности использования медикамента. Увы, судя по такому результату, эффект мемантина тоже чисто симптоматический.

Это можно считать хорошей новостью для тех, кто начинает принимать его на продвинутой стадии болезни: значит, они ничего не потеряли, припозднившись с его применением. Однако для человечества в целом тут нет ничего хорошего: вопреки возлагавшимся на него надеждам, мемантин не позволяет рассчитывать на остановку постепенного отмирания головного мозга под действием копящейся в нем амилоидной накипи.



В принципе, вообще не ясно, так ли уж полезно блокировать действие глутамата на нервные клетки. Как и в случае очень многих деталей нашего тонко настроенного метаболизма, эффект этой молекулы двоякий. С одной стороны, ее избыток действительно стимулирует отмирание нейронов; с другой стороны, речь идет об одном из важнейших мозговых нейромедиаторов, необходимом для нормального накопления и использования памяти. Следовательно, мемантин, даже защищая хранящие ее нервные клетки, может потенциально мешать запоминанию *новой* информации. Прямых свидетельств такого эффекта нет, однако до сих пор не вполне доказана даже симптоматическая польза этого средства: в двух других его широкомасштабных испытаниях не обнаружено *статистически значимой* разницы между действием мемантина и плацебо-контролем.

В любом случае, даже лекарство, способное *замедлить* отмирание клеток мозга, не смогло бы *предупредить*, а тем более *обратить вспять* его дегенеративные изменения: уже нанесенный ему ущерб остался бы невосполненным.

По мере накопления данных о ключевой роли бета-амилоида в патогенезе болезни Альцгеймера появилась новая надежда. Ученые начали все-речь обсуждать возможность атаки на сам зловерднй белок, что позволило бы непосредственно *лечить* пациентов – образно говоря, ставить их покалеченный и быстро сдающий мозг на ноги, а не снабжать его хлипкими костылями. Получив необходимую для работы модель, а именно генноинженерных мышей, головной мозг которых вырабатывает варианты человеческого бета-амилоида, ведущие к формированию белковых бляшек и параллельной деградации нейронов и памяти, исследователи смогли приступить к тестированию методов прямого воздействия на эти отложения.

☞ Новые мишени – старые ружья

Однако простая уверенность в том, что бета-амилоид – главный виновник альцгеймеровского слабоумия, еще не подсказывала способов его устранения. В результате академические лаборатории и фармацевтические компании разных стран мира начали наперегонки разрабатывать разнообразнейшие антиамилоидные стратегии: каждый надеялся сделать открытие нобелевского уровня или, как минимум, получить сенсационное по эффективности средство, которому гарантирован зловерде и неумолимо расширяющийся круг готовых на любые расходы покупателей.

Однако, как и можно было ожидать, задумавшись о борьбе с бета-амилоидными бляшками, многие специалисты прежде всего обратились к классическим *профилактическим* стратегиям, типичным для старомодного геронтологического подхода к старению. Помните: бета-амилоид, как и прочие амилоидные белки, образуется из безобидного в принципе соединения – белка-предшественника амилоида (БПА). Его длинные цепочки, вплетенные в мембраны мозговых клеток, хотя и выполняют не вполне понятную пока функцию, по крайней мере, не приносят нам *никакого вреда* – если остаются на месте и не “портятся”. Однако иногда фермент *бета-секретаза* по ошибке натывается на БПА и разрезает его молекулу не там, где надо. Потом за дело берется гамма-секретаза, не распознающая рокового дефекта в предлагаемой ей неверно обработанной молекулярной заготовке. В результате из клетки выделяется “липкий” бета-амилоид, нарушающий со временем работу нашего головного мозга.

Вполне естественно, одним из первых направлений антиамилоидной терапии стало создание лекарств, подавляющих активность бестолковых ферментов. Очевидно, это как минимум замедлило бы формирование бета-амилоида, а следовательно, и его бляшек, что в свою очередь, предупредило или затормозило бы развитие болезни.

Первым появилось средство, подавляющее активность гамма-секретазы. Опыты на животных показали, что его единственной дозы достаточно для снижения уровней растворимых (не успевших полимеризоваться) форм бета-амилоида как в головном мозгу, так и в плазме крови. Тогда разработчики, как и положено, перешли ко второй фазе испытаний – проверке эффективности и безопасности их детища на сравнительно небольшой выборке альцгеймеровских пациентов.

Дело было в 2001. Я пишу читаемые вами строки в начале 2007: до сих пор о результатах клинических испытаний этого первого ингибитора гамма-секретазы ничего не слышно. Возможно, мы так никогда и не узнаем, что именно там случилось, но кое-какие догадки на этот счет возникают. В любом случае испытания лекарства на людях привели к лучшему пониманию метаболической роли гамма-секретазы. Это заставило очередной раз задуматься над вопросом, который неизбежно возникает при разработке любой ингибиторной терапии: что именно *должны в норме* делать отключаемые ею компоненты нашего организма?

Конечно, человечество за свою долгую историю накопило множество вредных мутаций, но у нас *всех* в головном мозгу присутствует гамма-секретаза, а как уже говорилось в гл.3, эволюция не сохраняет в организме компонентов, единственная функция которых – вызывать его тяжелые патологии. Хотя активность гамма-секретазы и дает в долгосрочной перспективе отрицательный побочный эффект, т.е. накопление бета-амилоида, ученые никогда не отрицали наличия у нее какой-то *полезной* роли. В частности, во время испытаний обнаружилось, что она действует на только на БПА, но и на другие белки, включая *Нотч-рецептор 1* (НОТЧ1) с жизненно важными для нас функциями. Они *действительно* жизненно важные: к ним относится активация стволовых клеток, необходимых для обновления поврежденной мышечной ткани, рост новых кровеносных сосудов и созревание некоторых типов иммунноцитов.

Что же происходит с этими важнейшими биологическими процессами, когда перестает работать фермент, необходимый для их протекания? Опыты на животных с “нокаутированием” гена, кодирующего гамма-секретазу, или с использованием ее альтернативного ингибитора показали, что это подавляет развитие иммунных клеток и в костном мозгу, и в тимусе, снижая их количество в организме и вызывая патологию кишечника. Вполне вероятно, аналогичными побочными эффектами объясняется и гробовое молчание по поводу результатов первых испытаний подобной терапии на людях.

Тем не менее, некоторые специалисты до сих пор занимаются разработкой антиамилоидных лекарств, подавляющих ферментативную активность. В 2002 исследователи компании “Илай Лилли” представили полученные на

животных данные, демонстрирующие, что вещество LY450139 (кодовое название нового ингибитора гамма-секретазы) снижет уровень бета-амилоида у альцгеймеровских мышей, не влияя на НОТЧ1. Когда в 2006 я набрасывал черновик этой главы, появились результаты одного из его ранних испытаний на 70 пациентах с болезнью Альцгеймера. У 38 из них новое средство снизило уровни бета-амилоида, не дав никаких серьезных побочных эффектов. К апрелю 2006 компания уже сотрудничала с несколькими университетами и больницами, собираясь провести более широкомасштабное клиническое испытание, которое окончательно проверило бы способность своего детища противостоять этой болезни. Фирма “Элан фармасьютикал” тоже продолжает исследования какого-то ингибитора гамма-секретазы.

Однако дезактивация НОТЧ1 – далеко не единственная потенциальная опасность применения таких лекарств. Если помните, гамма-секретаза является также одним из обязательных участников *нормального, неамилоидогенного* метаболизма БПА, превращающего его в продукты, по всей видимости, необходимые для функционирования нейронов. Маловероятно, что подавление активности этого фермента не оказывает никакого отрицательного воздействия на работу мозга, которую так отчаянно стараются защитить исследователи. Просто развитие последствий может потребовать большего срока, чем шесть недель, выделенных на предварительное тестирование безопасности ингибитора. Как раз сейчас идет набор добровольцев для новых испытаний: подождем их клинических результатов и будем, как говорится, держать пальцы крестом за людей, рискнувших участвовать в этом эксперименте.

Другие ученые занимаются слегка иными вариантами той же самой фундаментальной стратегии. Одни разрабатывают средства, которые ингибируют *бета-секретазу*, другие стараются повысить активность *альфа-секретазы* (как вы помните, бета-секретаза вмешивается в нормальный процессинг БПА этим ферментом). Поскольку исследования в названных направлениях еще только начались, судить о потенциальных побочных эффектах рано, однако опять же весьма сомнительно, что изменение активности какого-либо типичного для всех нас фермента (особенно мозгового) не приведет ни к каким отрицательным последствиям. Например, судя по опытам на животных, ингибиторы бета-секретазы могут повысить у их потребителей риск некоторых психологических расстройств. Так, очень молодые особи с “нокаутированными” генами этого фермента *физиологически* кажутся более или менее нормальными, однако необычно пугливы и нелюбопытны. Похоже, они слишком быстро расходуют свой *серотонин* – нейромедиатор, неофициально известный как “гормон спокойствия”, активность которого стимулируется антидепрессантами типа Прозака.

☞ Освобождение пленников... или выпускание на волю преступников?

Ряд ученых действует в рамках альтернативного подхода, который – на первый взгляд – как будто соответствует проповедуемым мною биоинженерным принципам. Игнорируя собственно механизм возникновения бета-амилоида, они обращают основное внимание на процесс его агрегации в удушающие нейроны бляшки. Действительно, удивительно много медикаментов и даже растительных концентратов – от экстрактов пряности куркумы (входящей в состав приправы карри) до специально синтезированных средств, названных (очевидно, в рекламных целях) *бета-разрушителями*, – либо препятствуют слипанию бета-амилоида в бляшкообразующие фибриллы, либо расщепляют уже сформировавшиеся агрегаты... в лабораторных пробирках. Большинство этих соединений никогда не испытывалось на живых организмах. Некоторые уменьшают количество бляшек у животных, усиленно синтезирующих бета-амилоид в результате генетической модификации. Ряд именно *таких* препаратов планируется использовать в клинических испытаниях на альцгеймеровских пациентах.

Однако здесь мы сталкиваемся с проблемой чрезмерного доверия одной из гипотез относительно биохимических “причин” заболевания. В случае других амилоидозов связь между белковыми фибриллами и патологией достаточно очевидна. Действительно, при некоторых из этих болезней удается существенно продлить жизнь пациентов, “просто” *заменяв* пораженный амилоидом орган свободным от этой накипи трансплантатом.

Однако, несмотря на десятилетие интенсивного изучения “амилоидной гипотезы” альцгеймеровского слабоумия, его таинственная метаболическая подоплека до сих пор непонятна. Даже среди ученых, убежденных в ключевой патогенетической роли бета-амилоида, консенсус относительно деталей участия этого белка в развитии болезни отсутствует. Иными словами, продолжаются ожесточенные споры о том, каким именно образом образуемые им бляшки ведут к нарушению функций головного мозга пациентов. Можно, конечно, просто считать, что такая “накипь” *вызывает* болезнь Альцгеймера или связывает с ней какие-то глубинные метаболические дефекты, но это еще недостаточное основание для разработки эффективных терапевтических методов.

Суды по всему накопленному массиву данных, вполне возможно, работу нейронов затрудняют не столько *сами* бляшки, сколько растворимые *олигомеры* бета-амилоида – короткие цепочки, образованные всего несколькими молекулами (*мономерами*) этого белка, соединенными точно так же, как в его дающих осадок фибриллах, но достаточно мелкие, чтобы плавать

в омывающем мозг ликворе. В клеточных культурах и у подопытных животных наши бета-амилоидные олигомеры нарушают работу нейронов и ухудшают память гораздо сильнее, чем формирующиеся из этих частиц бляшки или входящие в их состав отдельные мономерные “звенья”. Получив инъекцию человеческих олигомеров, крысы становятся забывчивыми и демонстрируют признаки “спутанности сознания”. Бета-амилоидные мономеры такого действия не оказывают. Введение животным или в культуры мозговых клеток веществ, устраняющих из омывающей нейроны жидкости все формы бета-амилоида (его мономеры и олигомеры), препятствует возникновению отрицательных эффектов мономерно-олигомерной смеси, а фермент, селективно расщепляющий мономеры, но оставляющий нетронутыми олигомеры, такой защиты не обеспечивает.

Аналогичным образом, память крыс заметно улучшается через сутки после инъекции олигомеров, когда они уже ликвидируются естественными защитными системами организма. Это опять же указывает, что именно олигомеры, а не образующиеся из них бляшки виноваты в нарушении когнитивной функции. Действительно, судя по предварительным исследованиям, олигомеры можно сравнить с молекулярной пылью, брошенной в глаза нейронов: она мешает им принимать сигналы от других нервных клеток и перестраивать под влиянием полученных стимулов свои внутренние процессы. К этому можно добавить, что одна группа исследователей сообщила о подопытных мышях с обильными мозговыми бляшками, но без признаков какого-либо неврологического дефицита.

Другая серия экспериментов явно указывает на бляшки как на *результат*, а отнюдь не на причину широкомасштабного отмирания нейронов в мозгу альцгеймеровских пациентов¹¹. Это исследование было связано с детальной посмертной локализацией у них растворимых форм бета-амилоида и его отложений. Оказалось, что мономеры и олигомеры накапливаются еще интактными нейронами в лизосомах (подробно обсуждавшихся в предыдущей главе клеточных “мусоросжигателях”). Места с очень высокими уровнями этого материала демонстрируют признаки разрушения нейронов – бета-амилоид и лизосомные гидролазы распространяются вокруг некой центральной точки подобно ударной волне от взрыва. Там, где наблюдаются бляшки, в глубине образующего их мусора *тоже* обнаруживаются остатки лопнувших нервных клеток.

Возникает очевидное предположение: нейроны пытаются избавиться от токсичных амилоидных олигомеров, отправляя их в лизосомы. Как вы помните, опять же из предыдущей главы, в мозгу альцгеймеровских пациентов наблюдаются также явные признаки дисфункции этих органелл. Более того, значительная часть бета-амилоидных олигомеров внутри нервных клеток

фактически сосредоточена в лизосомах и вокруг них, а нерастворимые белковые агрегаты естественным образом захватываются и расщепляются *микроглией* (мозговыми макрофагами), но слишком медленно для того, чтобы предотвратить формирование бляшек.¹²

Таким образом, выстраивается следующая схема: количество накапливаемого амилоида в конечном итоге превышает возможности его лизосомного расщепления, раскручивая описанную выше смертоносную спираль событий, ведущую к гибели и разрушению нейронов с рассеиванием из них бета-амилоида и лизосомных ферментов, а это в свою очередь вызывает образование бляшек, сравнимых с кучей обломков на месте взорвавшегося здания.

Тем не менее, у безобидности таких бляшек при болезни Альцгеймера доказательств не больше, чем у их патогенности. Бета-разрушители, эффективные у подопытных животных (не только в пробирке), действительно, восстанавливают их память, очищая мозг от амилоидных отложений. Опять же, одного лишь взгляда на их опутывающую нейроны паутину у альцгеймеровских пациентов достаточно для сомнений в абсолютной безопасности этой белковой грязи.

Согласно одной из теорий, которая могла бы примирить эти противоречивые выводы, главный вред бляшек для мозга, по крайней мере, в краткосрочной перспективе, заключается в том, что они служат *резервуаром* бета-амилоидных олигомеров. Для наглядности советуем вспомнить простой эксперимент из школьной программы по химии. В стакане воды вы растворяете все большие количества какой-нибудь соли. В конечном итоге ее концентрация становится достаточно высокой для выпадения из раствора кристаллического осадка.

Учитель, вероятно, объяснил – или даже продемонстрировал – вам, что эти кристаллы находятся в “динамическом равновесии” с находящимися в растворе молекулами: те непрерывно оседают на твердой поверхности, а часть составляющего ее материала параллельно растворяется. Скорости этих противоположных процессов одинаковы, и в результате при данной концентрации раствора объем осадка остается постоянным. Естественно, если добавить в систему воды или соли, равновесие сдвинется, и кристаллы соответственно уменьшатся или увеличатся.

Вероятно, аналогичная история происходит и с амилоидными бляшками. Они образуются при повышении концентрации мономеров и олигомеров бета-амилоида и, связывая последние, ослабляют их потенциальную токсичность для окружающих нейронов. Однако, когда уровень свободных олигомеров в ликворе падает, бляшки частично растворяются, компенсируя это снижение, т.е. фактически поддерживая тормозное воздействие этих белковых частиц на нервное проведение.

Такая ситуация ставит разрабатывающих антиамилоидную терапию специалистов перед непростой дилеммой. Использовать бета-разрушители для профилактики образования бляшек или их растворения – значит, высвободить связанные в осадке бета-амилоидные олигомеры. А в результате их токсическое воздействие на нейроны будет *сильнее*, чем в том случае, когда бляшки остаются нетронутыми или даже продолжают накапливаться.

Фактически оба процесса могут происходить одновременно и, вероятно, именно так обстоит дело при болезни Альцгеймера. В связи с этим мне представляется весьма вероятным, что бета-амилоидные бляшки действуют в мозгу таких пациентов аналогично, скажем, трансферитиновым отложениям в сердце тех, кто страдает старческим сердечным амилоидозом. Как уже не раз говорилось, одного взгляда на опутавшую мозг белковую паутину достаточно для мысли о ее способности буквально удушать нейроны до смерти. Хотя четко показано, что для интеллекта потенциально вредно любое вмешательство, усиливающее воздействие на нейроны амилоидных олигомеров, простой рост образуемых ими бляшек по мере выработки дефектного белка мозговыми клетками (и/или разрывов их лизосом с выплескиванием наружу нерасщепленного бета-амилоида), безусловно, ведет со временем к еще более тяжелым неврологическим последствиям.

Речь идет об интереснейшей теоретической проблеме, от решения которой, по мнению многих ученых, зависит разработка эффективной стратегии лечения болезни Альцгеймера. Однако, как и в случае других возрастных патологий, я лично считаю это излишним. Повторюсь еще раз: для *устранения ущерба* не обязательно понимать детали его возрастного накопления и механизма нарушения им функционирования того или иного органа. Какой бы занимательной *интеллектуальной* задачей ни было выяснение конкретного пути, ведущего от неправильного процессинга БПА к образованию бета-амилоида, оседанию его в виде бляшек, лизосомной дисфункции, когнитивной патологии и отмиранию нейронов, с точки зрения *биомедицины* перед нами просто некий материал, который явно накапливается, изменяя состав нашего стареющего и начинающего болеть организма. В такой ситуации у меня единственный вывод: от такого материала *надо избавляться*.

Теперь вы, вероятно, вправе спросить: какой тип антиамилоидной терапии кажется мне предпочтительным? Потенциальная опасность для мозга как бляшек, так и олигомеров бета-амилоида делает простое *расщепление* его агрегатов затеей как минимум бессмысленной, если не рискованной. Однако это не исключает решения проблемы путем *полного удаления бляшек*. Это устранило бы сам источник проблемы, *независимо* от того, какой этап в формировании, метаболизации или агрегации их исходного материала является ключевым для возникновения его токсичности. Такое вмеша-

тельство представляло бы в моем понимании классический биоинженерный подход к противозрастной терапии. Если бы, конечно, оно было реально осуществимо.

К счастью, возможность его реализации скоро выяснится. Потенциальное решение проблемы уже проходит клинические испытания.

❧ “Иммунитет” к бляшкам: бета-амилоидная вакцина

Как я уже упоминал, некоторое время назад исследователи обнаружили, что клетки *микроглии* (мозговые макрофаги) медленно поглощают и переваривают образуемые нейронами бета-амилоидные отложения. К сожалению, скорость этого процесса недостаточна для очистки мозга от альцгеймеровских бляшек. Однако, по мнению специалистов, эффективность такого естественного защитного механизма можно должным образом повысить. Очевидный путь к этому был бы таким же, как и в случае других мишеней иммунной системы, т.е. вакцинация.

Представьте себе: пациенту впрыскивают бета-амилоид, и дремлющие часовые его иммунной системы, резко взбодрившись и увидев в дефектном белке опасного чужака, запускают механизм его интенсивного уничтожения. Те же самые силы, которые защищают нас от гриппа или ветрянки, мобилизуются на тотальную войну против опутывающей головной мозг паутины, вырабатывая специфически различающие ее антитела и стимулируя микроглиальные клетки на поиск и истребление помеченной ими смертоносной накипи.

Если задуматься, этот подход был бы даже эффективнее обычной иммунизации: анти-бета-амилоидная вакцина, по всей видимости, защищала бы от болезни Альцгеймера лучше, чем аналогичные медикаменты – от хорошо известных эпидемий. Конечно, они позволили почти полностью искоренить в развитых странах дифтерию, полиомиелит и корь, но *предупреждая* возникновение их новых случаев, а не излечивая уже выявленные. Преимущество вакцины против бета-амилоида в том, что она фактически *лечила* бы болезнь Альцгеймера, пасуя разве что перед самыми продвинутыми ее стадиями. Огромная армия активированных микроглиальных клеток с волчьим аппетитом набрасывалась бы на белковые бляшки, *поглощая* их, т.е. не предупреждая, а именно *устраняя* патологические изменения организма. Можно смело предполагать, что, если убрать из головного мозга душасшие его фибриллы, нормальная структура, а в результате и работа этого органа восстановятся.¹³

Главное же, предлагаемый метод работал бы независимо от того, какая теория о связи бета-амилоида с деградацией интеллекта окажется верной. (Правда, он не приводил бы к полному выздоровлению, если прогрессиро-

вание болезни Альцгеймера определяется и другими ее характерными признаками, например нейрофибрилярными клубками, однако в предыдущей главе предлагалось решение и этой проблемы.) Вакцина просто уничтожает бляшки (вскоре выяснилось, что она борется и с растворимыми олигомерами, даже *внутри* нейронов¹⁴), не расщепляя их на составляющие, а заставляя макрофаги захватывать и переваривать эти отложения¹⁵. Поскольку такой процесс ведет к полному *освобождению* мозга от бета-амилоида, риск дальнейшего выпадения его в патогенный осадок устраняется: нейронам уже не грозит вредное воздействие дефектного белка, независимо от того, каков именно механизм его токсичности.

Оказалось, что описанный подход сравнительно легко проверить, используя животных с вызванным биоинженерным способом вариантом болезни Альцгеймера. Наука давно научилась модифицировать в обычных вакцинах вирусные частицы, сохраняя их достаточное для индукции иммунного ответа сходство с исходным патогеном и одновременно лишая способности вызывать инфекцию, однако для предварительного тестирования нашей концепции не потребовалось даже этого: мышам просто впрыснули агрегированный человеческий бета-амилоид.

Эффект, как говорится, превзошел ожидания. Бляшки в мышинном мозгу быстро регрессировали. Вздутие и дисфункция *нейритов* (отростков, связывающих нервные клетки) исчезли – осталась нормальная, функциональная ткань. Плотное воспаленное разрастание окружающих нейроны опорных клеток уменьшилось¹⁶. Память больных мышей, оцениваемая по их способности находить скрытые помосты в затопленных лабиринтах, приблизилась к типичной для более молодых и здоровых животных^{17,18}.

Компания, координировавшая эти исследования, “Элан фармасьютикал”, получила сходные результаты на множестве моделей генно-инженерных мышей, различавшихся нарушавшими процессинг БПА мутациями. Главное же, такое лечение, похоже, не дает побочных эффектов. Вопреки высказывавшимся опасениям, иммунная атака на бета-амилоид *вокруг* нейронов животных не вредит тонкой сети опорных клеток, к которой прилипают его отложения. Некоторые специалисты говорили также о риске пробивания чересчур агрессивной иммунной атакой на этот белок гематоэнцефалического барьера, защищающего мозг от присутствующих в крови токсинов, что привело бы к поражению центральной нервной системы чужеродными для нее веществами из других частей тела, однако свидетельств в пользу такого эффекта маловато. Описанные результаты произвели должное впечатление на Американское Агентство по контролю за качеством пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств (FDA): оно быстро дало согласие на допуск разработанной “Эланом” вакцины (кодовое

название AN-1792) к клиническим испытаниям с плацебо–контролем.

Для него было набрано почти 400 пациентов–добровольцев: 300 из них регулярно получали амилويدную вакцину, а 72 – инъекции физраствора (плацебо). Интеллект и функциональное состояние мозга испытуемых периодически оценивались (относительно их исходных показателей) с помощью множества нейропсихиатрических и клинических тестов.

Через год разразилась катастрофа.

☞ Пожар в мозгу

Уже через несколько месяцев после начала испытания у некоторых пациентов стали заметны серьезные побочные эффекты. Среди 300 добровольцев, набранных в 28 клинических центрах Европы и Северной Америки, примерно у каждого 15–го развился *менингоэнцефалит* –угрожающее жизни воспаление головного мозга, явившееся, по–видимому, результатом протекания в нем слишком сильной иммунной реакции¹⁹.

Как только обнаружился этот побочный эффект, испытание остановили, а исследователи стали лихорадочно обсуждать, в чем именно их недоработка. Возникшая проблема была для них полным шоком. Вакцина тестировалась на мышах с широким диапазоном генетических аномалий, каждая из которых вела формированию бляшек альцгеймеровского типа в результате того или иного нарушения в синтезе или метаболизации БПА, и никаких побочных эффектов не наблюдалось – несмотря на использование гораздо более агрессивного лечения, чем допустимо при испытаниях на человеке.

Вопрос о том, откуда взялся кризис после таких тщательных доклинических экспериментов, подробно обсуждался в СМИ и специальной литературе – останавливаться на этом здесь было бы, на мой взгляд, слишком сильным отклонением от темы. Важно одно: ученые быстро занялись проблемами, созданными первой вакциной, и, как мы увидим ниже, путями их преодоления.

☞ Добыча руды из шлакового отвала

Первое клиническое испытание оказалось катастрофическим для нескольких пациентов и было прекращено еще до того, как ученые смогли оценить весь спектр эффектов вакцины – как положительных, так и отрицательных. Однако, несмотря на ограничения, обусловленные этим серьезным побочным эффектом, а в каком–то смысле и *благодаря* им исследователи приложили все усилия к тому, чтобы выжать максимум из собранных данных, отчасти окупив тем самым человеческие и финансовые потери, связанные с

провалившемся предприятием^{20,21,22}. Тщательно просеяв информацию, они сделали предварительные выводы, согласно которым, хотя у ряда пациентов и возникло воспаление мозга, иммунизация бета-амилоидом в принципе все-таки *лечит* людей. Это открытие в сочетании с результатами дальнейших опытов на животных подсказало и пути избавления от наблюдавшихся (и других) побочных эффектов при создании новых вакцин. Несколько таких препаратов следующего поколения уже либо разрабатывается, либо даже приходит клинические испытания.

Когда пришлось внезапно прервать первое клиническое испытание, информация об участвовавших в нем пациентах была еще разбросана по 28 независимым клиническим центрам, в которых они лечились. Предварительный анализ полученных в ходе собственно испытания данных не дал обнадеживающих результатов: улучшения памяти или иных когнитивных функций у испытуемых в целом почти не наблюдалось. Однако когда пыль осела и исследователи стали собирать и изучать полные истории болезни своих подопечных, картина оказалась более поучительной²³. Действие любой вакцины на конкретного человека зависит от его индивидуальных особенностей: развивающийся иммунный ответ у одних сильнее, у других слабее. Отделив испытуемых, в крови которых к моменту завершения эксперимента обнаруживалось значительное количество антител к бета-амилоиду (59 человек), от остальных его участников (с отсутствием заметной реакции), ученые смогли продемонстрировать в первой группе *замедление* дегенеративных процессов.

Этот вывод был сделан не сразу, поскольку на первых порах затушевался статистикой. Когда исследователи анализировали результаты когнитивных тестов *индивидуально*, они не обнаруживали разницы, которая выдерживала бы проверку на статистическую достоверность. Однако анализ тестовых данных по *группам* больных наводил на мысль, что у людей с выраженным иммунным ответом функция мозга за период испытания ухудшилась меньше, чем в случае плацебо-контроля. Эта разница стала замечаться только через 12 месяцев вакцинации, когда испытание было остановлено. Особый интерес представляла наиболее выраженная разница при сравнении всей совокупности оценок, полученных при тестировании памяти. Самое же главное, похоже, наблюдалась своего рода зависимость эффекта от дозы: наиболее интенсивная выработка антител коррелировала с максимальным улучшением общей, оперативной и долговременной памяти, а также результатов ее тестирования по девяти показателям и, возможно, также “исполнительской функции” (т.е. высших форм мозговой активности, связанных с началом и продолжением ведущих к определенной цели действий).

Эти результаты производили тем более сильное впечатление, что активная реакция на вакцину в большинстве случаев сочетается с вызываемыми ею “микроисультами” и слабым воспалением мозга. К такому выводу приводят не только данные вскрытий и опытов на животных, но и побочные эффекты в форме головных болей и спутанности сознания, наблюдавшиеся у иммунизируемых индивидов гораздо чаще, чем в плацебо–контроле. Действительно, альцгеймеровские мыши с бета–амилоидными отложениями в сосудах, т.е. склонные в результате введения вакцины к микрокровоизлияниям, демонстрировали, *тем не менее*, улучшение когнитивной функции, несмотря на непосредственное геморрагическое поражение своего головного мозга. Если функция мозга сохраняется вопреки слабо выраженной хронической атаке на него иммунной системы, значит, параллельные положительные сдвиги в клиническом состоянии перевешивают это небольшое поражение. А следовательно, можно ожидать, что вакцина, избавляющая от бета–амилоида (действие, по–видимому, доказанное уже в первом испытании) без воспалительных побочных эффектов, приведет к гораздо более выраженному улучшению когнитивной функции.

Еще одно интересное открытие было сделано, когда исследователи проверили уровни тау–белка (главного компонента нейрофибрилярных клубков) в омывающей центральную нервную систему *цереброспинальной жидкости* (ЦСЖ), или ликворе. Хотя из каждой группы удалось отобрать всего лишь по десятку индивидов с пригодными для сравнения данными, у активно реагировавших на вакцину людей этот уровень оказался ниже, чем в плацебо–контроле. А речь идет о косвенном, но вполне логичном признаке более медленного отмирания мозговых нейронов, поскольку их массовая гибель при болезни Альцгеймера должна вести к обогащению межклеточной жидкости тау–белком.

Что же можно сказать о *запланированном* действии вакцины, т.е. о ее способности бороться с бета–амилоидными бляшками? К сожалению, ученые пока не способны достоверно оценивать их объем в мозгу живых пациентов, хотя позволяющие делать это методы визуализации уже разработаны и сейчас проверяются на точность. Однако можно легко определить в ЦСЖ уровень растворенного бета–амилоида. В опытах на животных анти–бета–амилоидная вакцинация почти всегда ведет к *повышению* этого уровня, что обычно интерпретируется как свидетельство удаления белковой “паутины” из головного мозга и транспортировки ее компонентов в другую часть тела для окончательной ликвидации. Такой эффект *не* наблюдался у небольшого числа участников испытания, по которым удалось собрать пригодные для сравнения данные. Однако мы располагаем другим, более надежным источником информации: тремя активно реагировавшими на вакцину людьми, умершими в ходе этого эксперимента. Конечно, к ре-

зультатам, полученным всего для трех индивидов, надо относиться осторожно, однако вскрытия, производившиеся независимыми группами специалистов, показали во всех случаях *резкое* уменьшение объема бляшек в ключевых областях головного мозга – по сравнению с контрольными образцами.

Более того, изучая мозг участников испытания, патологоанатомы обнаружили скопления в непосредственной близости от многих оставшихся там бляшек микроглии, а это наводит на мысль именно о запланированном действии вакцины: активированная иммунная система успешно мобилизует микроглиальные макрофаги на уничтожение бета-амилоидного осадка. Такой вывод подтвердило еще одно исследование, проведенное уже *после* завершения эксперимента на людях. Оно показало, что у получивших бета-амилоидную вакцинацию карибских зеленых мартышек пожилого возраста резко (на 66%) снижается общий уровень в головном мозгу бета-амилоида, *полностью отсутствуют* его бляшки и существенно снижается выраженность характерных для людей с болезнью Альцгеймера плотных скоплений обслуживающих нейроны *глиальных клеток*²⁴. Это важное свидетельство, поскольку у изученных обезьян патология альцгеймеровского типа – *естественный* результат старения, и по всем своим признакам они гораздо ближе мышей к людям. Сейчас авторы данного исследования разрабатывают методы тестирования когнитивной функции мартышек.

☞ Следующая бета-амилоидная вакцина

Вся эта обнадеживающая, пусть и не вполне убедительная информация снова позволила считать бета-амилоидную вакцинацию эффективным способом лечения (или как минимум одним из главных компонентов терапии) альцгеймеровского слабоумия. Мы узнали достаточно и о потенциальном действии вакцины и о причинах вызываемого ею летального воспаления мозга, чтобы разработать в рамках той же базовой стратегии ряд *новых* подходов, из которых хотя бы один почти наверняка даст нужный эффект, не подвергая пациентов дополнительному риску.

Естественно, главное при создании безопасной вакцины – избежать чрезмерной стимуляции иммунных клеток, атаковавших мозг участников первого испытания, одновременно заставив микроглию аккуратно очищать его от амилоидных бляшек. Добиться этого можно разными способами, каждый из которых уже проверен на животных с аналогом болезни Альцгеймера и доказал свою эффективность при отсутствии побочных иммунных эффектов, грозящих пациенту гибелью.

Один из сравнительно прямолинейных подходов, уже вступивший в фазу клинических испытаний – так называемая *пассивная иммунизация*. В отличие от ак-

тивной вакцины, содержащей сам антиген (в данном случае бета-амилоид), который заставляет иммунную систему вырабатывать против него *собственные* антитела, пассивный препарат содержит уже готовые антитела, обеспечивающие ту же самую реакцию. Преимущество этого метода в том, что он позволяет специалистам выбирать, *какие именно* антитела будут циркулировать в организме пациента. В результате можно подобрать или даже специально изготовить такой их тип, который стимулировал бы переваривание амилоидных отложений микроглией²⁵ без риска нежелательной иммунной атаки на кровеносные сосуды мозга.

Главный недостаток этого подхода в том, что он не обеспечивает практически постоянного иммунитета к патологии, ожидаемого при активной вакцинации, как, например, в случае прививок против свинки и полиомиелита. Пациенту придется всю жизнь регулярно вводить себе антитела, которые будут поддерживать его способность бороться с амилоидными отложениями. Однако даже у этого недостатка есть своя положительная сторона: поскольку иммунная система постепенно утрачивает свою антиамилоидную активность, лечение конкретного индивида – или испытание препарата в целом – можно в любой момент прекратить, если появятся его нежелательные побочные эффекты, без риска сохранения организмом дестабилизированного состояния, сходного с аутоиммунной патологией, которое индуцировалось бы активной вакцинацией.

Еще один подход – создание активной вакцины, содержащей только *часть* бета-амилоидной молекулы. Изучая иммунный ответ на введение целой молекулы этого белка, специалисты обнаружили образование в организме смеси различных антител. Лишь некоторые из них отрицательно воздействуют на кровеносные сосуды. Характерно, что такие антитела вырабатывались только у *людей*, но не у мышей или обезьян, которые, получая ту же самую вакцину, не страдали в результате от тяжелых поражений головного мозга. Эти антитела нацелены только на один вполне конкретный участок бета-амилоидного белка, расположенный в середине его полипептидной цепочки. В то же время *большинство* антител, вырабатываемых мышами, обезьянами и даже человеком, действует на совершенно другой отрезок бета-амилоида, находящийся на конце его молекулы.

Поскольку достаточно ясно, что антисосудистый эффект не только не обязателен для лечения (поскольку оно не наблюдается у активно и пассивно вакцинируемых животных, несмотря на резкое снижение у них уровня амилоида и параллельное улучшение памяти), но и крайне вреден для пациентов (учитывая его роль в развитии мозгового воспаления), можно ожидать высокой эффективности основанной на описанном принципе вакцины и одновременно ее безопасности для мозга. Такой препарат, действуя лишь на один ключевой участок бета-амилоида, обеспечивал бы постоянный им-

мунитет против этого белка, не заставляя иммунизированный организм атаковать попутно и другие, ни в чем не повинные мозговые структуры.

На сегодняшний день разработано уже несколько активных вакцин такого селективного действия. Для их создания ключевой участок бета-амилоида связывают с другими белками или антигенами, сочетают его с адекватными иммуностимуляторами или объединяют несколько таких участков в своего рода молекулярную “подушечку с булавками”. Все это призвано обеспечить максимальную выработку нужных антител, без провоцирования чрезмерной иммунной реакции. Все такие вакцины, как оказалось, действительно, снижают уровень бета-амилоида, а зачастую и объем бляшек. Некоторые из них можно вводить в организм очень удобным способом – чрескожно с помощью пластырей, аналогичных никотиновым, широко применяемым при борьбе с курением, или через слизистую – в форме назальных спреев – типа тех, которые сейчас быстро устраняют заложенность носа.

Однако на этом изобретательность ученых не остановилась. Например, когда эта книга уже готовилась к печати, исследователи из Юго-западного медицинского центра Техасского университета сообщили, что инъекция животным ДНК, кодирующей самый токсичный тип бета-амилоида, путем введения ее под кожу внутри крошечных золотых микрочастиц, ведет к синтезу данного белка, вызывающему интенсивную и, похоже, безопасную выработку соответствующих антител. Результат: у получивших в течение нескольких месяцев 11 таких инъекций альцгеймеровских мышей объем амилоидных бляшек сократился на 66–77,5%²⁶.

Как уже говорилось, наиболее изученный препарат для пассивной иммунизации уже находится на средней стадии кинических испытаний, организованных фирмой “Элан фармасьютикалс”. Хотя это только первое лекарство нового поколения, разработка клинически эффективных и безопасных анти-бета-амилоидных средств уже превратилась в настоящую гонку. В самом деле, на сегодняшний день вопрос, по-видимому, не в том, *будет или нет* работать такая иммунизация, а *какая* из многочисленных ее стратегий окажется в конечном итоге самой эффективной и безопасной. Учитывая достигнутые уже сейчас успехи, можно с достаточной уверенностью ожидать, что в скором времени мы сможем направить древнюю мощь собственной иммунной системы на борьбу с лишшающим нас разума бета-амилоидом и освободить свой немолодой мозг от удушающей его паутины.

❧ Амилоидная вакцинация: не только Альцгеймер

Я потратил столько времени на обсуждение бета-амилоидной вакцины против болезни Альцгеймера, что начало этой главы вполне могло вами за-

биться. Однако, как там указывалось, бета-амилоид – лишь самый известный представитель целого класса внеклеточных белковых агрегатов (“амилоидов”), связанных со старением и возрастными патологиями. И я не собираюсь повторять ошибку Национального института старения, ежегодно бросающего почти *половину всех своих ресурсов* на исследования болезни Альцгеймера в ущерб своей главной задаче, которая заключается (точнее, должна заключаться) в борьбе со всеми аспектами старения, а не с одним конкретным его проявлением. Я подробно остановился на этих вакцинах только потому, что они уже дошли до стадии клинических испытаний. Судя по достигнутым с ними успехам, можно было бы использовать такого же рода иммунологическую стратегию для борьбы с большинством других возрастных патологий, вызываемых накоплением в организме внеклеточного мусора.

Если не считать бета-амилоидной вакцинации при болезни Альцгеймера, дальше всего продвинулась разработка иммунологического препарата против *системного АЛ*, называемого также *первичным амилоидозом*. Я уже вкратце упоминал в начале главы об этой патологии. Это самый распространенный амилоидоз в США и некоторых других развитых странах, поражающий ежегодно от двух до трех тысяч американцев. Он является результатом избыточного синтеза так называемыми *плазматическими клетками* одного из компонентов антител – легкой цепи иммуноглобулинов (“Л” – легкая цепь, “А” – амилоидоз: отсюда “АЛ” – амилоидоз легкой цепи).

Однако я не собираюсь подробно останавливаться здесь на АЛ, поскольку это не *возрастная* патология и вызывающий ее белок, вероятно, существенно отличается от тех, которые накапливаются к старости. Главная разница в том, что он откладывается так стремительно, что, возможно, не образует такого количества внутренних сшивок, как возрастные амилоиды. По поводу АЛ мне хотелось бы коснуться только связанного с ним иммунотерапевтического подхода, по-видимому, потенциально применимого и для борьбы со старческими амилоидозами.

Нынешние способы лечения АЛ явно неадекватны. Еще недавно стандартным вмешательством был курс высоких доз химиотерапии, призванной убивать патогенные плазматические клетки, зачастую в сочетании с пересадками костного мозга для компенсации неизбежных при этом потерь *других* клеток крови. Чуть позже случайное открытие привело к появлению нового химиотерапевтического средства I-DOX (йод-доксорубин), которое ускоряет удаление амилоидных бляшек системного АЛ посредством еще не известного механизма, по-видимому, не связанного с подавлением активности плазматических клеток. Однако даже это лекарство нередко вызывает патологии крови. Более того, оба упомянутых подхода помога-

ют только людям с бляшками в мягких тканях и бессильны в более серьезных случаях, когда поражаются почки или сердце. Наконец, говорить о серьезных успехах лечения не приходится: смертность больных остается на уровне 40%.

На пороге нынешнего тысячелетия ученые из лаборатории доктора Ала-на Соломона, работающие в рамках Программы иммунологии и онкологии человека Медицинской аспирантуры Университета Теннесси, получили новую АЛ-модель, просто впрыскивая мышам человеческий легкоцепочечный амилоид, экстрагированный из печени или селезенки людей, умерших от этой болезни. Введенный белок быстро начинает формировать у животных амилоидные “опухоли”, размеры которых зависят от количества инъецированного препарата: при высоких его дозах амилоидные массы на мышной спине так велики, что прощупываются снаружи^{27,28}.

Исследуя влияние этой болезни на подопытных животных, группа доктора Соломона продемонстрировала способность антител к определенному участку уникального “бета-слоя” в структуре фибрилл легкоцепочечного амилоида частично расщеплять его отложения, делая их более уязвимыми для иммунной атаки. Когда исследователи извлекали из мышей амилоидные опухоли, обрабатывали их такими антителами, а потом возвращали обратно, животные избавлялись от этих белковых масс быстрее, чем от интактных опухолей сходного размера. Их уничтожение ускорялось также предварительной обработкой антителами исходных неагрегированных амилоидных экстрактов перед их инъекцией. Введение антител одновременно с такими экстрактами ускоряло рассасывание белковых отложений даже у иммунодефицитных животных²⁹. Как выяснилось, одно из таких антител – *иммуноглобулин G1*, названный *11-1F4*, – обладает самым сильным “охотничьим инстинктом”, быстро набрасываясь на опухоли, образованные любым из двух главных классов легкоцепочечных амилоидных фибрилл человека, как в пробирке, так и у мышей с такими отложениями. Не менее важно и то, что антитело атакует этот амилоид избирательно, не проникая в другие ткани – ни в организме, ни в культуре. Кроме того, оно действует на *предварительно сформированный АЛ-амилоид*.

☞ Антитело на все руки

Как я уже отмечал, 11-1F4 рассматривается здесь вовсе не из-за его действия на легкоцепочечный амилоид. Единственный недостаток использованной Соломоном модели системного АЛ – ее неприменимость к человеку, поскольку белковые отложения почти не распространяются на жизненно важные органы. Сознвая это, его группа нашла способы тестирования

этого антитела в случае других амилоидных болезней, в частности *амилоидоза белка А (АА)*, который называют также “вторичным” или “воспалительным”. Это самое распространенное за пределами США амилоидное расстройство³⁰. Преимущество АА в том, что у многих линий мышей его легко индуцировать как полномасштабную патологию: достаточно ввести им химикат, вызывающий сильную воспалительную реакцию (например нитрат серебра), как начинается усиленная выработка сывороточного амилоида А (САА), белка, образуемого печенью при воспалении. Как и легкие цепи иммуноглобулинов, САА лишь частично расщепляется макрофагами, что приводит к высвобождению его “липких” фрагментов, которые, агрегируя, накапливаются в почках и печени. Таков патогенез АА и у мышей, и у людей, поэтому амилоидоз, возникающий у подопытных животных, получивших воспалительные химикаты, достаточно точно имитирует аналогичную человеческую патологию.

Как ни странно, упомянутая группа из Университета Теннесси обнаружила, что антитело 11–1F4 реагирует и с АА–амилоидом у мышей, очищая их организм от этих отложений^{31,32}. Фактически оно действует на них почти так же эффективно, как и на свою исходную АЛ–мишень: в среднем уровень амилоида снижается более, чем на три четверти – как в печени, так и в селезенке! Возможно, все дело в сходстве молекулярных участков, обуславливающих “липкость” различных по природе фибрилл, т.е. в их близких антигенных свойствах. Не исключена также какая-то связь с давно известным фактом: экстракты из отложений АЛ–амилоида ускоряют развитие АА у мышей в ответ на воспаление. Если это верно, возможно, агрегационные свойства различных амилоидов обеспечивают их взаимодействие, а в результате каждый из них служит своего рода центром кристаллизации, стимулирующим осаждение другого. Тут допустима аналогия с маленьким пятном пригоревшей пищи внутри сковородки. Если не удалить его сразу же, при следующих готовках оно будет все прочнее закрепляться на поверхности и обрастать дополнительными пищевыми частицами, постепенно увеличиваясь в размерах и становясь все более стойким к удалению.

Но что еще более знаменательно, группа из Университета Теннесси обнаружила позднее способность 11–1F4 атаковать и удалять амилоиды, порождаемые *транстиретином*, белком, транспортирующим в крови гормоны щитовидной железы. Его агрегаты вызывают старческий сердечный амилоидоз, ведущий к смерти множества наших современников самого старшего возраста. Если пассивная иммунизация 11–1F4 сможет обращать течение обеих этих амилоидозов (АЛ и АА), мы получим инструмент для очистки от двух важнейших типов внеклеточной грязи человечества в целом, а так-

же потенциально и от других форм амилоидов, которые реже убивают людей просто потому, что наша жизнь недостаточно длинна для их существенного накопления.

Таким образом, предварительные результаты очень обнадеживают. Очевидный следующий шаг – тестирование перспективного антитела на пациентах с соответствующими амилоидозами. Для этого надо будет сначала его “очеловечить”. Если вы не забыли, у удаляемого в описанных экспериментах легкоцепочечного амилоида происхождение человеческое, а борется с ним *мышинное* антитело, которое, вполне возможно, не сумеет найти общего языка с нашей иммунной системой. Для преодоления этой проблемы группа доктора Соломона “химеризовала” исходный иммуноглобулин, соединив его распознающую антиген “рабочую головку” с человеческой “рукояткой”. Получившийся продукт продолжает бороться и с легкоцепочечным амилоидом и с агрегатами САА у мышей не хуже первоначальной вакцины. Результаты настолько многообещающие, что Группа по разработке лекарств Национального онкологического института уже договорилась о широкомасштабном фармацевтическом производстве химерного антитела с намерением использовать его в предварительных клинических испытаниях на людях.

☞ Открывающиеся возможности

ГМожно с полным основанием полагать, что описанный здесь иммунологический подход к устранению амилоидов, доказавший свою правомочность на мышинных моделях болезни Альцгеймера и еще трех человеческих амилоидозов (и дошедший в первом случае до стадии клинических испытаний на людях), будет действовать и на другие типы внеклеточной “паутины”. Возьмем, к примеру, амилин, или “островковый амилоидный полипептид”, амилоидогенные свойства которого в начале этой главы уже упоминались. Амилиновые агрегаты накапливаются на вырабатывающих инсулин бета-клетках островков Лангерганса в поджелудочной железе почти всех пациентов с диабетом 2-го типа (т.е. с возрастной, инсулинонезависимой формой “сахарной болезни”). Как сами агрегаты, так и образующие их растворимые олигомеры, по-видимому, играют определенную роль в отмирании бета-клеток, происходящем по мере прогрессирования патологии³³, что ведет к неспособности организма вырабатывать достаточные количества инсулина для адекватного снижения в крови уровня глюкозы, повышающегося после каждого приема пищи.

Никто еще не пробовал создать вакцину, удаляющую эти отложения, однако реализуемость такого подхода, по-видимому, вытекает из обнаруже-

ния фибрилл амилина в макрофагах, находящихся в непосредственной близости от его агрегатов, которые, тем не менее, не подвергаются полной биодеградации. Более того, амилиновые фибриллы поглощаются и накапливаются микрофагами в лабораторных (“пробирочных”) условиях³⁴. Судя по всему, иммунная система атакует и эту форму внеклеточной грязи – пытается бороться с ней, как с бета-амилоидом и с вызывающим вторичный амилоидоз отложениями. Следовательно, вполне можно ожидать, что эту атаку можно усилить какой-нибудь вакциной, сходной с уже разрабатываемыми иммунологическими препаратами против других амилоидозов. Терапевтические перспективы такого подхода будут еще более впечатляющими, если сочетать его с добавкой в лизосомы макрофагов ферментов, более эффективно расщепляющих амилиновые фибриллы. В предыдущей главе уже обсуждались пути решения этой проблемы.

Перед инъекциями вакцин или готовых антител вряд ли устоят и другие типы амилоидозов. И если сейчас основной упор делается на разработке лекарств против специфических амилоидных патологий, этот же подход, очевидно, можно использовать для борьбы со старением в целом. Когда будет доказана его эффективность в случае болезни Альцгеймера, старческого сердечного амилоидоза и диабета 2-го типа, уже раскрученная технология позволит быстро создавать средства против скрытых амилоидных отложений, которые сейчас заметно влияют разве что на людей, втыкающих на своем дне рождения в торт сотню и более свечек.

Стремительный переход от лабораторного изучения к клиническим испытаниям подобных препаратов (эффективность бета-амилоидной вакцины у мышей обнаружилась в 1999, а ее проверка на людях началась уже в 2001) наводит на мысль о том, что в будущем, когда первые анти-амилоидные средства начнут с успехом применяться врачами по всему миру, мы сможем еще более взвинтить темпы разработки многоцелевой противовозрастной терапии.

В конечном итоге я вижу систему, которая защищала бы весь наш организм от отложений внеклеточной грязи – что-нибудь типа регулярных инъекций анти-амилоидных вакцин, напоминающих стандартный курс прививок, применяемый сейчас для детской иммунизации. Время и частота введения таких препаратов зависели бы от скорости накопления их мишеней до уровней, нарушающих жизненно важные функции: в одних случаях “бустер-дозы” пришлось бы получать через каждые два-три года, в других – всего несколько раз в течение каждого столетия жизни, продолжительность которой наверняка существенно увеличится. Регулярные реиммунизации позволяли бы нашим клеткам и органам жить и работать, не страдая от заглушающей их молекулярной повилки, возвращали бы им буквально *необуданный* потенциал молодости.

Разбивая оковы гликирования



Год за годом определенные химические процессы сковывают между собой структурные белки нашего организма, мешая им выполнять свои жизненно важные функции. Рано или поздно это приводит к хорошо известному (и в конечном итоге летальному) спектру возрастных дефектов и болезней, прежде всего почек, сердца, глаз и кровеносных сосудов. Что если разбить такие химические кандалы, позволив освобожденным от них белкам работать так, как в годы молодости? Ученые уже заметно продвинулись по пути создания лекарств, которые привели бы к достижению этой цели.

☞ ОСТАЮТСЯ СЧИТАННЫЕ ЧАСЫ до роскошного рождественского пиршества – атмосфера насыщена ароматами и эмоциональным напряжением. На кухне, с утра ни на миг не прекращаются хлопоты: постоянно горит плита, и хозяйка тщетно старается проветрить помещение, распахнув форточку. Наконец, суета и стресс приближаются к своей кульминации. Картошка превратилась в пюре, клюквенный соус разлит по блюдам, готовые багаты томятся в духовке, тыквенный пирог остывает на подоконнике... Сейчас все внимание поварахи и мысли ее семейства занимает последний, главный компонент трапезы.

Последние полтора часа каждые 15 минут индейку любовно поливали ее собственным жиром, возможно, добавив к нему чуточку меда. Теперь, чтобы совершенство кулинарного шедевра не вызывало ни малейших сомнений, включается режим гриля: поверхность птицы должна покрыться ароматной глазурью.

Все то время, пока индейка находилась в духовке, в ней незаметно происходили сложные химические процессы, которые теперь ускоряются. Высокая температура приводит к тому, что сахара и жиры реагируют с белками птичьей кожи. В этой молекулярной кузнице возникают и расщепляются различные соединения, что ведет к прочному сшиванию соседних полипептидных цепочек. В результате поверхность индейки покрывается плотным слоем белков, связанных между собой производными жиров и углеводов.

Наконец, дело сделано. Мама распахивает духовку, надевает кухонные рукавицы и кричит папе, чтобы он доставал разделочный нож. Собравшаяся за столом семья жадно следит за священнодействием, истекая слюной при виде побуревшей, хрустящей, липкой, затвердевшей корочки, в которую химические реакции превратили поверхность птичьей кожи. Кушать подано!

Я уверен, что каждому из вас знакома такая или аналогичная картина, идет ли речь о праздничной индейке или кулебяке, бабушкиных пирожках или обычной жареной картошке. Однако вряд ли многие догадываются, как много у собравшихся за столом общего не только с их родственниками, но и с подаваемыми блюдами.

Каждый день в нашем теле исподволь протекают те же самые процессы, которые ведут к побурению мяса и другой жареной или запеченной пищи. Они идут в артериях, почках, глазах, сердце, коже, нервах. Прямо сейчас во всех наших тканях глюкоза, снабжая их энергией, одновременно проводит опасные химические эксперименты, *карамелизируя* наш организм точно так же, как мы сами карамелизируем на сковородке лук или котлеты. Сахара и жиры медленно, но верно образуют опасные связи, которые склеивают между собой наши белки, инактивируют ферменты, подают в клетках аномальные химические сигналы, повреждают ДНК. Короче, портят наш организм – старят его.

Этот процесс можно было бы назвать КПП^{4*}-ением. Почему? Сейчас вам станет понятно.

☞ Как мы все гликируемся

Сахар (глюкоза) – главный энергоресурс нашего организма. Как и любое топливо, он “сжигается” нашими клетками именно потому, что очень активен химически, а значит, способен “вспыхивать” в самых неподходящих местах, т.е. вступать в нежелательные реакции. В частности, в нашем организме постоянно идут сложные химические процессы, в ходе которых сахара и другие виды клеточного горючего портят структуру белков, приводя к образованию *конечных продуктов гликирования*^{5**}, или КПП. Аналогичные реакции лежат в основе “побуре-

ния”, наблюдаемого, скажем, при жарке мяса, карамелизации соуса или нагревании ломтика хлеба в тостере. КПП накапливаются в наших тканях, постепенно затрудняя их работу, потом вызывая болезни и в конечном итоге преждевременно сводя нас в могилу. КПП превращает гибкую грацию юности в затвердевшую скованность старости в результате тех же химических процессов, которые приводят к появлению хрустящей корочки на рождественской индейке.

Многочисленные химические реакции, промежуточные соединения и конечные продукты этого затвердения и “побурения” интенсивно изучались сначала пищевиками и химиками, а в последнее время и биомедиками. Все началось с работ в 1910–е многогранного французского ученого Луи Майяра, однако лишь в 1980–е врачи и биологи всерьез заинтересовались ролью КПП в развитии диабетических осложнений и возрастных изменений различных тканей. Сейчас уже ясно, что мы только начинаем понимать, насколько опасна неразборчивость процессов гликирования не только для диабетиков, но и для любого стареющего организма.

Хотя детали этих процессов выходят за рамки моей книги, чтобы разобраться в различных стратегиях, предлагаемых для защиты тканей от “дубящего” воздействия КПП, надо кое-что знать о путях их образования. Лучшее всего изучен следующий (главные этапы реакции Майяра, см. **Рисунок 1А**): молекула сахара, приобретая открытую конформацию, присоединяется к аминокислоте (белковой цепочке), *гликируя* ее с образованием *шиффо-ва основания*. Это соединение сравнительно нестабильно и зачастую спонтанно распадается. Однако иногда оно преобразуется в более стойкое производное – *продукт Амадори*. Срок его жизни гораздо дольше, чем у шиффо-ва основания, и этот факт долго использовался в лабораторных тестах по измерению уровня *гликированного гемоглобина (HbA1c)*, одного из продуктов Амадори, который образуется в эритроцитах и является индикатором средней концентрации сахара в крови на протяжении нескольких предыдущих недель.

Несмотря на свою *относительную* стабильность, эти соединения тоже не застрахованы от дальнейших превращений. Их судьба может включать перестройку или расщепление базовой структуры, присоединение молекул воды, потерю аминогрупп, атаку свободных радикалов. Многие из этих преобразований ведут прямо или опосредованно – через формирование высокореактивных промежуточных продуктов типа *оксоальдегидов* – к возникновению еще более устойчивых структур. Фактически они настолько стабильны, что их можно считать “конечными продуктами”. Именно они и называются конечными продуктами гликирования, или КПП.

Для нас важнейший результат этих процессов – возникновение межбелковых *сшивок*, т.е. КПП, включающих белки, которые, образно говоря, рабо-

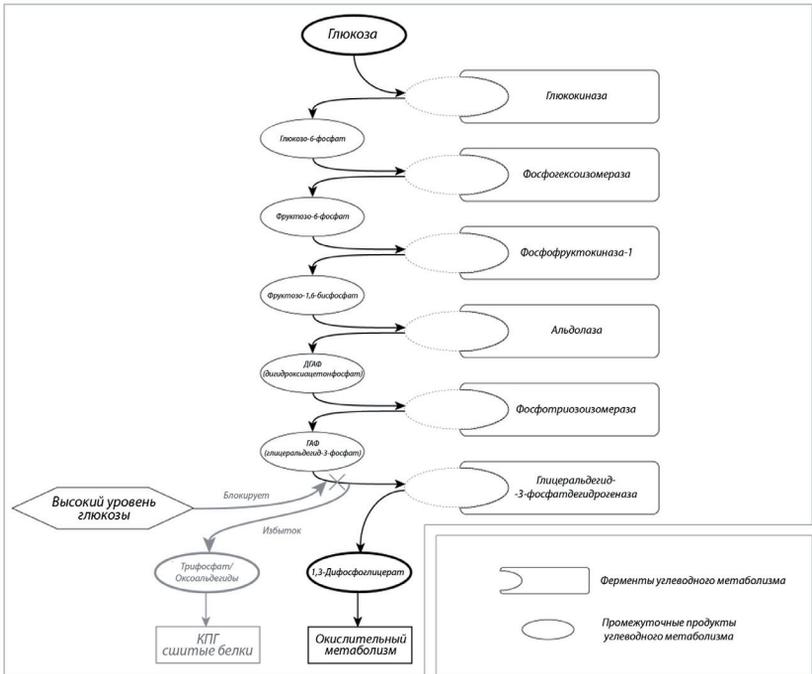
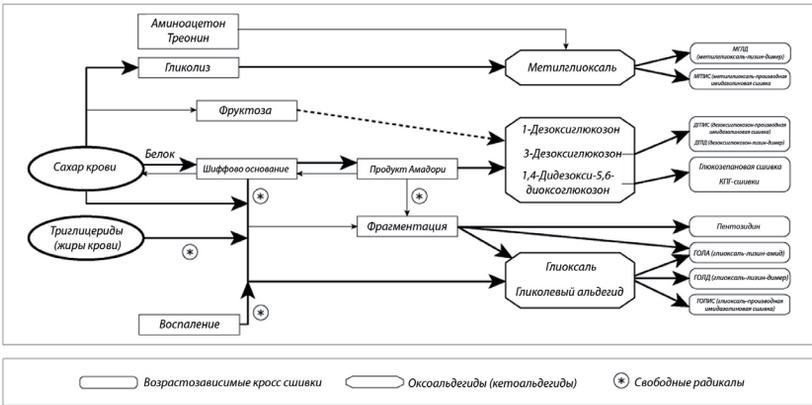


Рисунок 1; Пути образования КПП: А – “химический” (через реакцию Майяра); Б – “метаболический” (триозофосфатный); В – источники метилглиоксала.

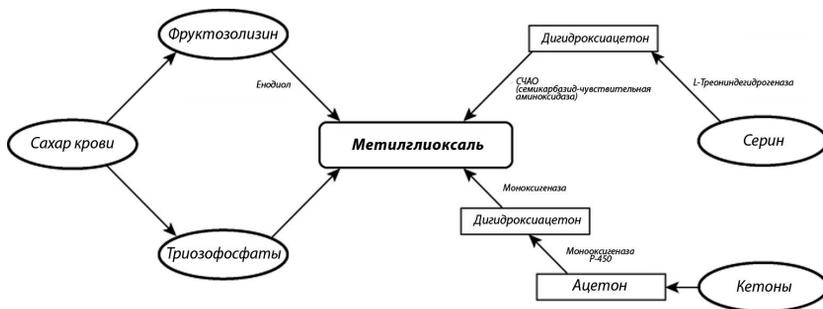


Рисунок 1 продолжение

тают одной рукой, поскольку вторая в результате гликирования оказывается прочно прикованной к соседней полипептидной цепочке.

У диабетиков такое гликирование происходит гораздо быстрее, чем у прочих людей – хотя бы из-за повышенного уровня в их крови сахара. В любой химической реакции рост концентрации одного из реагентов ускоряет его взаимодействие с “мишенями”, если, конечно, сами они присутствуют в достаточном количестве. Однако КПГ–сшивки накапливаются и у людей с нормальным уровнем сахара, причем совершенно ясно, что они во многом ответственны за различные патологии и повышенную чувствительность к повреждающим факторам повседневной жизни, т.е. за характерные признаки нашего “нормального” старения.

☞ Смертельное затвердение

Сшивание белков и с молекулярной, и с функциональной точки зрения аналогично процессу, приводящему к снижению мягкости губок, которыми моют окна. Если у человека нет диабета, участком, где такая потеря эластичности наиболее опасна для жизни, является сердечно–сосудистая система. Накопление КПГ–сшивок постепенно делает сердце и кровеносные сосуды жестче и неподатливее. Идущее затвердение артерий (артериосклероз) в значительной степени объясняет рост систолического давления, наблюдаемый с возрастом у каждого человека. (Речь идет о “верхней” цифре при измерении этого показателя, например 110, если ваше давление 110/90.) Тем временем КПГ–ение сердца ухудшает его способность как *сокращаться*, выталкивая кровь в сосуды, так и *растягиваться*, снова ею заполняясь. Сочетание двух этих процессов повышает нагрузку на наш “мотор”, ведя в конечном итоге к той или иной форме сердечной недостаточности, *если что–нибудь не убьет нас раньше*. Ана-

логичная потеря эластичности снижает способность артерий противостоять ритмичному пробеганию по ним пульсовых волн: они становятся хрупкими и рано или поздно лопаются при очередном скачке давления, как старая резиновая лента. Один из потенциальных результатов этого – апоплексический удар, т.е. геморрагический инсульт, или попросту кровоизлияние в мозг.

Однако вред, наносимый КПП–сшивками, распространяется далеко за пределы сердечно–сосудистой системы. Они скрепляют белки по всему телу, накапливаясь с возрастом в таких разных структурах, как, скажем, глазные капилляры и *миелиновые оболочки* нервных клеток. Повсюду эти сшивки нарушают функции белков, ведя к физиологическим расстройствам, органическим патологиям и, наконец, к смерти. Например, в глазу они накапливаются между молекулами кристаллинов – белков, образующих хрусталик. В результате он мутнеет, хуже пропускает свет и покрывается бурными пигментными пятнами: развивается катаракта. Сочетание КПП–сшивания с некоторыми возрастными процессами на клеточном уровне объясняет, почему возраст и диабет являются важнейшими факторами, предрасполагающими к этой главной во всем мире причине потери зрения.

Причем КПП ведут к его ухудшению и другими путями. Межбелковые сшивки способствуют *диабетической ретинопатии* (поражению мелких кровеносных сосудов, питающих сетчатку – световоспринимающий слой на внутренней поверхности глазного яблока), возрастной макулярной дегенерации, а возможно, и открытоугольной глаукоме.

От КПП тяжело страдают и почки, опять же главным образом у диабетиков. *Диабетическая нефропатия* – главная причина почечной недостаточности в США. Треть всех направляемых на диализ пациентов вынуждены прибегать к этой процедуре в связи со своим диабетом. Причем тяжесть поражения почек коррелирует с уровнем в них КПП – межбелковых сшивок, которые повреждают почечный биофильтр и запускают воспалительную реакцию, ведущую к перекомпенсации ущерба путем разрастания рубцовой ткани – типа “дикого мяса” на месте поверхностных повреждений. Общий эффект двух этих процессов – затрудненная проницаемость капилляров, призванных осуществлять фильтрацию крови. Общая фильтрующая поверхность почек сокращается, а их способность оттеживать присутствующие в крови вещества ухудшается. Ситуация отчасти напоминает слипшийся в комок фильтр кофеварки: в чашку, где должен быть прозрачный напиток, попадает гуща.

КПП способствуют и *диабетической невропатии*, инвалидизирующему поражению *нервов* конечностей, которым страдают многие диабетики. Тяжесть этой патологии варьирует, однако самый характерный ее симптом напоминает ощущение, возникающее, когда “отсидишь” или “отлежишь” руку или ногу: временное ухудшение их кровоснабжения ведет к онемению, по-

кальвующей боли и как минимум частичной утрате контроля над пострадавшей частью тела. При диабетической невропатии наблюдается также некоторое ухудшение *бессознательной* нервной деятельности, включая регуляцию ею сердечного ритма, кишечной моторики, функции мочевого пузыря и эрекции. К этому зачастую добавляются головокружение и тошнота – вплоть до рвоты. Связаны ли КПП со сходными, менее выраженными нарушениями нервной деятельности, возникающими с возрастом у практически здоровых людей, неясно, но представляется весьма вероятным.

Сравнение скорости накопления межбелковых швов в тканях различающихся темпами старения видов и индивидов наводит на мысль о том, что КПП играют важную роль в развитии не только специфических заболеваний и диабетических осложнений, но и свойственных всем нам изменений, связанных с процессом старения. Определить количество одного из КПП, *пептидолина*, и степень жесткости белков кожи или хвоста нетрудно. Скорость возрастного увеличения обоих этих показателей обратно пропорциональна максимальной продолжительности жизни разных видов млекопитающих. Иными словами, вид стареет тем медленнее, чем больше времени требуется КПП для “дубления” его коллагена (см. **Рисунок 2**). Аналогичным образом, образование КПП затрудняется при ограничении калорийности рациона, которое, как уже упоминалось в предыдущих главах, является лучше всего изученным способом замедления старения млекопитающих. И действительно, в эксперименте повышенная скорость КПП-ения тканей оказывается предсказателем более ранней смерти у животных, сидящих на низкокалорийной диете¹. В случае нашего с вами вида исследования показывают, что даже при “нормальных” с медицинской точки зрения уровнях (которые гораздо ниже диабетических) глюкозы² или продукта Амадори HbA1c³, их более высокая концентрация в крови коррелирует с повышенным риском преждевременной смерти от любой причины.

Следовательно, лекарство, которое замедляло бы накопление КПП или снижало бы их уровень, помогло бы людям с весьма широким спектром патологий. Потенциально оно, если не излечило, то облегчило бы такие проблемы, как возрастное повышение артериального давления, поражение почек, нервов и зрения у диабетиков, различные формы сердечной недостаточности. Кроме того, оно помогло бы нам справиться с одной из важнейших причин старения.

Естественно, эта мысль возникала у меня не сегодня: не первый год исследуются различные способы снижения уровня КПП в тканях, причем некоторые из них уже достигли стадии клинических испытаний. Однако, несмотря на многолетнюю работу, ни одна из предложенных схем не оказалась пока достаточно эффективной и безопасной для включения ее в тера-

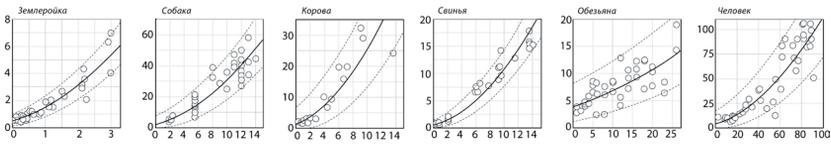


Рисунок 2 Связь максимальной продолжительности жизни со скоростью образования КПГ. Из⁴

певтический арсенал какого-либо развитого государства. Препятствия, которые мешали их созданию и ограничивали применимость, представляют собой тему особого исследования проблем, связанных с попытками затормозить возрастное поражение тканей путем вмешательства в сложную биохимию жизненных процессов.

☞ Противосахарная терапия

Тот факт, что КПГ-шивки часто являются результатом взаимодействия с белками глюкозы, играющей роль склеивающего их агента, сразу же подсказал возможное решение проблемы: понизив в крови уровень сахара, затруднить образование шиффовых оснований (см. рис.1), а в результате уменьшить количество КПГ в организме. Естественно, этот подход уже давно был одним из главных направлений лечения диабетиков, и в 1990-х два широкомасштабных и широко цитируемых проекта – *Испытание контролируемого диабета и его осложнений (ИКДО)* и *Британское перспективное изучение диабета (БПИД)* – признавались убедительнейшим доказательством его эффективности, разумеется, в определенных пределах. Оба этих исследования продемонстрировали, что строгий контроль уровня сахара в крови (интенсивное применение гипогликемических средств и частая проверка уровня глюкозы) существенно снижает риск основных диабетических осложнений. В частности, согласно результатам ИКДО, при таком жестком контроле – по сравнению с стандартными на тот момент методами лечения – вероятность развития невропатии падает почти на две трети, нефропатии – примерно наполовину, а ретинопатии – на целых три четверти.

Результаты ИКДО и БПИД широко рекламировались во всем мире – правительственными спонсорами названных проектов, организациями пациентов и фармацевтическими фирмами, заинтересованными в увеличении продаж своих сахароснижающих медикаментов. Цель этой кампании была очевидна: врачей побуждали назначать гипогликемические средства пациентам, у которых контроль за уровнем глюкозы считался достаточным по прежним меркам, но теперь признавался неадекватным, а также увеличи-

вать дозы подобных лекарств в случаях хуже контролируемого диабета.

Польза такого усиленного потребления сахаропонижающих медикаментов казалась несомненной: в результате резкого снижения риска слепоты, нервных расстройств и почечной недостаточности у больных должны были существенно возрасти качество и продолжительность жизни. Однако, когда специалисты реально оценили *общее* состояние людей, проходивших такое интенсивное лечение в клинических испытаниях, выводы оказались на удивление мрачными. Несмотря на снижение риска основных диабетических осложнений, “суммарное” самочувствие таких пациентов по сравнению с контрольными группами, получавших стандартную терапию, *не улучшилось*.^{5,6}

Вероятно, отсутствие явной пользы агрессивного гипогликемического подхода объясняется многими факторами. Хотя диабетические осложнения, несомненно, существенно снижают качество жизни, сахароснижающие средства тоже дают свои побочные эффекты, которые до поры до времени замалчивались. В частности, они способствуют набору веса, а это ухудшает состояние людей – как непосредственно, так и косвенно, повышая риск других заболеваний, например остеоартрита. Кроме того, многие пациенты находят, что жесткий режим инъекций и частое взятие крови из пальца (для потенциальной корректировки доз) накладывает на их жизнь серьезные ограничения, которые, по данным ряда исследований, чреваты депрессией, фрустрацией, изоляцией и служебными трудностями.

Наконец, постоянные попытки загнать сахар крови в “нормальные” рамки создают опасность того, что его уровень упадет *слишком* низко – вплоть до “гипогликемического криза”, грозящего широким спектром осложнений, от головокружения до комы. Этот момент особенно важен, когда речь идет о нормальном старении. Если польза от снижения уровня сахара сомнительна в случае *диабетиков*, она тем более спорна как способ борьбы с КПП у остальных людей: содержание глюкозы в их крови по определению ниже, а значит, вероятность развития гипогликемического криза намного выше. Иными словами, минусы такого подхода, судя по всему, перевешивают его потенциальные плюсы.

Даже если бы мы нашли способ безопасного снижения уровня сахара до физиологически допустимого минимума, это отнюдь не стало бы окончательным решением проблемы накопления КПП. Всем нам необходимо в крови *определенное* количество глюкозы – нашего главного энергоресурса. А какой-то процент этой глюкозы будет *всегда* реагировать с тканевыми белками, приводя к образованию между ними пресловутых сшивков.

Более того, не все КПП являются производными глюкозы. Присутствие в крови *жиров (триглицеридов)* тоже ведет к сшиванию белков, особенно

при сильном окислительном стрессе. Именно этот процесс вызывает побурение кожи жареной индейки, даже если не поливать ее поверхность ничем сладким. У диабетиков уровень в крови триглицеридов, как и сахара, обычно тоже повышен, причем снизить его было бы полезно и многим другим людям. Однако этот жир, как и глюкоза, тоже необходим для нормальной работы нашего организма, так что опять же бороться с ним можно лишь в определенных рамках.

☞ Чем меньше, тем хуже

И это еще не все. Попытки контролировать – даже нефармакологическими способами – уровни обоих этих ранних предшественников КПП чреваты парадоксальными метаболическими последствиями.

Например, один из четко установленных эффектов низкоуглеводных диет (типа “диеты Аткинса”) – снижение в крови уровня триглицеридов и ослабление общего воздействия на организм углеводов. Естественно, была высказана гипотеза, что такое питание замедляет образование КПП. К сожалению, индуцируемое такими диетами метаболическое состояние (печально известный *кетоз*) дает весьма нежелательный побочный результат – скачкообразно увеличивает образование оксоальдегида (кетоальдегида) *метилглиоксала*, одного из главных предшественников КПП, который, по иронии судьбы, вырабатывается и в клетках диабетиков, когда они потребляют *больше* глюкозы, чем могут сразу же переработать (см. рис.1Б и 1В). В одном недавнем исследовании была проведена количественная оценка этого эффекта у здоровых людей, которые в течение месяца успешно выдержали две фазы диеты Аткинса – соблюдение ее подтверждалось присутствием в их моче кетонов. Уровень метилглиоксала у них *удвоился*, став даже выше, чем при плохо контролируемом диабете⁷. А, как и прочие оксоальдегиды, метилглиоксаль химически гораздо активнее сахара крови (в 400 000 раз, если точнее) и дает в организме широкий спектр давно известных нежелательных реакций, среди которых образование КПП, возможно, не самая опасная. Значит, диета Аткинса потенциально *ускоряет* сшивание белков, а не замедляет его.

☞ “Радикальное” предложение – скромные результаты

Еще до появления неожиданных результатов ИКДО было очевидно, что сахароснижающая стратегия не способна окончательно решить проблему КПП. Организм *нуждается* в сахаре и жире крови как в клеточном топливе, и *никакой* их уровень не может быть достаточно низок для предупреждения межбелковых сшивков. Снижение концентраций глюкозы и три-

глицеридов в лучшем случае затормозило бы неминуемое гликирование. В результате некоторые исследователи обратили свое внимание на другие индукторы белкового сшивания, чья роль в нашем организме менее многогранна.

Одна из таких профилактических стратегий заключается в использовании высоких доз антиоксидантов для снижения уровня свободных радикалов. Как показано на рис.1А, они могут ускорять превращение некоторых предшественников КПГ в специфические прочно сшитые продукты. Это называется *гликоксидацией*. Результаты добавления свободных радикалов к белкам и сахарам в пробирочных экспериментах продемонстрировали, что гликоксидация представляет двойную опасность для диабетиков: у них не только повышены в крови уровни глюкозы и триглицеридов, но и – в силу связанных с болезнью метаболических нарушений – происходит усиленное образование свободных радикалов в клетках. Потенциально эти процессы ведут к синергетическому отрицательному эффекту. Важность свободных радикалов для образования КПГ подчеркивается и тем фактом, что уровень глюкозы в крови птиц удивительно высок: он убил бы человека, однако пернатые в среднем живут примерно вдесятеро *дольше* млекопитающих такого же размера. Вероятно, частично это объясняется их способностью эффективно справляться с окислительным стрессом.

Если гликоксидация, *действительно*, является одной из главных причин повышенного уровня КПГ у диабетиков, значит, нейтрализация у них избытка свободных радикалов антиоксидантами могла бы существенно затормозить сшивание тканевых белков, что привело бы к увеличению продолжительности жизни и снижению риска инвалидизирующих осложнений. Многие исследования на лабораторных грызунах подтвердили это предположение: различные антиоксиданты, как правило, заметно уменьшают количество сшивок в их тканях, параллельно снижая распространенность и тяжесть диабетического поражения почек, нервов и даже сетчатки.

Однако результаты испытаний антиоксидантной анти-КПГ-терапии на людях оказались неутешительными. Ее влияние на уровень КПГ и симптоматику было минимальным или вообще отсутствовало. А если положительный эффект и наблюдался, то почти исключительно в самых тяжелых случаях болезни, тогда как более “типичные” диабетики облегчения не испытывали^{8,9,10}. Сейчас известно несколько главных причин этого. Во-первых, у человека диабет ведет к гораздо меньшему, чем у подопытных грызунов, усилению окислительного стресса. Это подтверждается сравнением уровней поврежденных свободными радикалами молекул в коже соответствующих видов. А более низкая свободнорадикальная нагрузка озна-

чает меньшую роль гликооксидации в образовании КПП у людей–диабетиков, что в свою очередь ослабляет потенциальную пользу борьбы с данным фактором.

Однако существует и другая, более общая причина неэффективности антиоксидантной анти–КПП–терапии – простая химическая “неразборчивость” высокореактивных предшественников сшивающих белки агентов. Этот момент наглядно иллюстрируется следующим исследованием на животных¹¹. Диабетических грызунов сажали на диеты, обогащенные различными антиоксидантными добавками (витаминами или экстрактами зеленого чая). Их влияние на уровень КПП оценивалось путем сравнения подопытных животных со здоровыми и с получавшими стандартный рацион диабетиками. Для выявления роли связанных с образованием КПП биохимических процессов измерялись уровни веществ, возникающих на разных этапах их формирования – от начала гликирования до формирования специфических сшивок, которые являются результатом как гликооксидации, так и реакций, проходящих без участия свободных радикалов.

Как и в более ранних опытах с грызунами, антиоксиданты, действительно, несколько ослабляли диабетические осложнения. Не менее ожидаемым было отсутствие их влияния на *начальное гликирование* белков, поскольку свободные радикалы вмешиваются в формирование КПП на более поздних этапах этого процесса (см. рис.1А). Однако исследователей ждал сюрприз, когда они определили природу конкретных *сшивок*. Естественно, добавки антиоксидантов не влияли на уровни КПП, образующихся без участия свободных радикалов, однако, как ни странно, они *повышали* количества двух КПП, считающихся результатом гликооксидации: в результате у диабетических животных, получавших экстракты зеленого чая, возникло в целом *больше* сшивок, чем у тех, кто просто страдал от “естественного” хода этой болезни.

Такой парадоксальный результат лишний раз иллюстрирует ошеломляющую сложность запутанного клубка, называемого метаболизмом. В отсутствие свободнорадикальной атаки предшественники неожиданных сшивок не исчезают бесследно: при существенном ослаблении окислительного стресса антиоксидантными добавками эти вещества продолжают накапливаться, пока не находят альтернативный путь, приводящий к тем же КПП, которые обычно являются результатом гликооксидации. Это можно сравнить с автомобильной пробкой, перекрывшей главную транспортную артерию: некоторые водители просто разворачиваются и возвращаются домой, однако большинство устремляется на боковые улицы, создавая оживленное движение в оставшихся прежде сонными окружающими кварталах.

☞ Побочный вред пользы

Наиболее изученные способы образования КПП – события в принципе случайные, не особо отличающиеся от процессов, происходящих при побурении жареной пищи или в экспериментальных пробирках. Метаболическое топливо, растворенное в крови или внутриклеточной жидкости, неупорядоченно сталкиваются с тканевыми белками. В зависимости от различных факторов, включая температуру, концентрацию реагентов, присутствие переходных металлов и свободных радикалов, возможны разнообразные химические взаимодействия. В некоторых случаях они ведут к образованию того или иного типа сшивок.

Однако некоторые КПП формируются организмом более целенаправленно, в результате *регулируемых* метаболических процессов. Недавно обнаруженный пример этого связан с ферментом *миелопероксидазой*, который используется макрофагами для уничтожения бактерий с помощью токсичной *хлорноватистой кислоты*. Показано, что в присутствии белковой аминокислоты *серина* она может индуцировать сшивку КПП-типа, независимую от метаболизма обычного клеточного топлива – жиров и углеводов¹².

Если бы миелопероксидаза активировалась только для уничтожения бактерий, этот путь образования КПП не имел бы особого значения, по крайней мере, у жителей развитых стран, редко страдающих от хронических инфекций (хотя число таких людей, на самом деле, гораздо больше, чем обычно считается). Однако, как уже говорилось в гл.7, макрофаги атакуют не только микробов: в частности, они также возбуждаются – и усиливают активность своей миелопероксидазы – стараясь очистить стенки артерий от застрявшего в них холестерина. Некоторые ученые считают, что работа этого фермента может быть одной из главных причин высокого уровня КПП, наблюдаемого в пенистых клетках не страдающих диабетом атеросклеротиков.

Вероятно, подавление избыточной миелопероксидазной активности в атеросклеротических бляшках было бы весьма желательно, однако ее фармакологическое ослабление, скорее всего, плохо сказалось бы на нашей способности защищаться от бактерий. Как хорошо известно больным СПИДом, угнетение иммунной системы не только повышает риск сравнительно редких инфекций типа туберкулеза: оно заставляет человека тяжело страдать от микробов, проникновение которых в свой организм большинство людей переносит практически бессимптомно. Более того, как ни удивительно, одно исследование показало, что у животных, специально выведенных для моделирования патологии типа нашего атеросклероза и лишенных способности вырабатывать миелопероксидазу, артерии поражались бляшками *сильнее*, чем у особей с нормальной активностью этого фермента. Еще одна иллюстрация обескураживающей запутанности метаболических процессов¹³.

☞ Несбывшаяся надежда

Итак, попытки понизить уровни исходных предшественников КПП – глюкозы или жира – практически трудны и, кроме того, небезопасны, поскольку речь идет о главном биологическом топливе. Нейтрализация свободных радикалов и переходных металлов не дает достаточного эффекта, так как не устраняет альтернативных путей образования межбелковых сшивок.

Однако анализ рис.1А наводит на мысль о более привлекательной терапевтической мишени – оксоальдегидах (кетоальдегидах). С одной стороны, концентрация этих высокореактивных веществ гораздо ниже, чем у глюкозы или триглицеридов крови. Следовательно, для достижения существенного положительного эффекта достаточно избавиться от сравнительно небольшого количества их молекул (по сравнению с глюкозой метилглиоксала в крови, например, в несколько тысяч раз меньше). Кроме того, оксоальдегиды очень активны химически (как уже упоминалось, вероятность поражения тканевых белков метилглиоксалем в 40 000 раз выше, чем при воздействии на них глюкозой). Значит, очистка крови от этих молекул – гораздо более надежный способ профилактики образования КПП–сшивок. Далее, оксоальдегиды начинают участвовать в сшивании белков на поздней стадии этого процесса, т.е. в их отсутствие альтернативных путей его протекания остается намного меньше. Наконец, в отличие от необходимых организму сахаров, концентрацию которых в крови можно без риска для жизни понижать лишь до определенного минимума, оксоальдегиды – в принципе токсичны. Иными словами, теоретически мы могли бы полностью от них избавиться без всякого вреда для здоровья.

Таким образом, если попытки затормозить образование КПП антиоксидантами или сахароснижающими средствами можно сравнить с переворачиванием вверх дном всего криминализованный района, атака на оксоальдегиды больше похожа на тщательно спланированный полицейский рейд по отлову выслеженных членов банды.

Довольно долго медикаментом, способным справиться с этой задачей, революционизировать лечение диабета и, возможно, нанести первый серьезный удар такому Майку Тайсону, как биологическое старение в целом, казался *аминогуанидин*, который фирма–производитель окрестила *Пимагидином*. Он широко обсуждался в специальной литературе по диабету и даже упоминался как продляющее жизнь средство в популярных журналах и на интернет–форумах именно потому, что самым понятным механизмом его действия является как раз нейтрализация оксоальдегидов.

Годами шло тестирование аминогуанидина – сначала в пробирках с предшественниками КПП и смесями катализаторов, потом в клеточных культурах

и, наконец, на подопытных животных. Почти с каждым экспериментом надежды на новое лекарство крепили. У диабетических крыс оно замедляло образование КПП в клетках сетчатки и разрастание питающих их кровеносных сосудов. У собак оно предупреждало потерю клеток этих сосудов и их отмирание с ухудшением кровоснабжения сетчатки. Кроме того, у обоих видов аминогуанидин поддерживал эластичность сердца и кровеносных сосудов.

Менее убедительными, но все же обнадеживающими были перспективы его использования для профилактики других диабетических осложнений. Оно уменьшало в почках общий уровень ткани, настолько прочно сшитой, что ее не расщепляли даже крепкие кислоты, и в значительной степени предупреждало ослабление почечной фильтрации, наблюдаемое при диабете у крыс, хотя у собак на развитие этой патологии не действовало. Далее, у получавших это лекарство диабетических грызунов (но не у павианов) меньше страдало кровоснабжение нервов и улучшалась их способность проводить импульсы.

Но самое главное – с точки зрения роли КПП в дегенеративных процессах старения – аминогуанидин, похоже, снижал их уровни в сердце и почках (параллельно замедляя ухудшение их функции) у животных без диабета, страдавших чисто возрастным накоплением межбелковых сшивок.

После нескольких предварительных исследований на людях, как будто продемонстрировавших отсутствие у этого медикамента явной токсичности, компания, которая запатентовала его как потенциальное антидиабетическое средство, привлекла внимание биотехнологического гиганта “Дженетек”, ставшего ее партнером в организации двух широкомасштабных клинических испытаний. Каждое из них охватывало порядка 600 человек с начальной стадией диабетической нефропатии, наблюдавшихся в медицинских центрах по всей Северной Америке. Для первого испытания (АКЦИЯ I) набрали пациентов с диабетом 1–го (аутоиммунного) типа, а для второго (АКЦИЯ II) – с его гораздо более распространенным 2–ым (возрастным) типом, обычно развивающимся при нездоровом образе жизни, который, впрочем, иногда накладывается на генетическую предрасположенность. Уровень сахара в крови и артериальное давление у участников испытаний эффективно контролировались медикаментами, так что дальнейшая разница между экспериментальной и контрольной группами, очевидно, отражала бы только результаты действия на образование КПП тестируемого аминогуанидина.

Когда в 1996 АКЦИЯ I завершилась, его результаты точнее всего было бы назвать неутешительными. С одной стороны, у получавших лекарство снизились показатели, относящиеся к факторам риска, включая артериальное давление, уровни в крови “плохого” холестерина (ЛПНП) и триглицеридов. С некоторой натяжкой можно было бы говорить и о способности аминогуаниди-

на улучшать определенные стороны почечной функции. Кроме того, в крошечной подгруппе, тестирувавшейся до и после испытания, диабетическое поражение сетчатки у людей, получавших лекарство, *казалось* менее серьезным, чем в случае плацебо–контроля, хотя эти наблюдения не вполне корректны, поскольку сделаны не в ходе эксперимента, а по его завершении.¹⁵

Однако целью исследования было продемонстрировать непосредственное улучшение медикаментом работы почек, оцениваемой стандартными лабораторными тестами. А данных в пользу именно такого вывода оказалось явно недостаточно. Хотя сами по себе цифры, полученные при использовании аминогуанидина, выглядели лучше, чем в плацебо–контроле, разница эта относительно количества испытуемых столь мала, что ее вполне можно объяснить статистической погрешностью. Ситуацию можно сравнить с выпадением, скажем, семи “орлов” при десятикратном подбрасывании монетки, хотя математическая вероятность такого ее положения составляет ровно 50, а не 70%.

Хуже того, если польза аминогуанидина выглядела сомнительной, опасность его применения казалась бесспорной. Помимо признаков гиперактивности (и, возможно, поражения) печени и странных гриппоподобных симптомов, проходивших после прекращения испытания, у некоторых его участников анализ крови указал на развитие аутоиммунного расстройства. У трех пациентов, получавших повышенную дозу лекарства, они сочетались с тяжелым воспалением почек, которое за считанные недели или месяцы ведет к полному их отказу. У двух из этих людей эта болезнь прогрессировала до конечной стадии почечной недостаточности. К счастью, такой предполагаемый побочный эффект обнаружился достаточно быстро, после чего была сразу же начата программа мониторинга, не позволившая развиться клиническим признакам почечной патологии ни у одного из остальных пациентов.

РОКОВОЕ СХОДСТВО



Даже сейчас не вполне ясно, чем объясняется высокая токсичность аминогуанидина, не обнаруженная в опытах на животных. Однако на этот счет существует интересная гипотеза. Если она подтвердится, испытание аминогуанидина станет еще одним свидетельством того, что попытки подавлять отрицательные стороны метаболических процессов слишком часто ведут к нежелательному риношету.

Это вещество считали перспективным КПГ–блонатором, исходя из механизма его действия – нейтрализации оксоальдегидов. Они содержат как ми-

нимум так называемые карбонильные группы, C=O, т.е. атомы углерода, соединенные двойной связью с атомами кислорода. Такая структура придает многим соединениям высокую биологическую активность – вот почему оксоальдегиды легко образуют межбелковые сшивки. Естественно, для поддержания жизненно необходимых процессов существуют метаболические механизмы обуздания этой активности, и неудивительно, что карбонильные группы присутствуют *также* во многих важнейших биологических молекулах.

Проблема возникает из-за неспецифичности действия аминокетонамида – его неспособности отличать вредные оксоальдегиды от других соединений. Следовательно, можно ожидать, что они атакуют некоторые *жизненно важные* молекулы с карбонильными группами. Фактически известно по крайней мере одно такое вещество – витамин В6. В результате у получающих аминокетонамида животных может легко развиться дефицит этого витамина – ситуация, клинически неотличимая от возникающей при его недостатке в пище.

Кстати, хорошо известно, что понижающее артериальное давление средство под названием гидралазин с той же самой связывающей карбонильной *гидразиновой* группой, которая используется аминокетонамидом для нейтрализации оксоальдегидов, вызывает похожее на волчанку аутоиммунное расстройство. Его первый признак – появление в крови таких же антител, как и у получавших аминокетонамида участников АНЦИИ I.



Увы, если такое многообещающее средство, как аминокетонамида, не способно без риска для пациентов достаточно эффективно предупреждать образование КПП для улучшения состояния диабетиков, оно наверняка не принесет особой пользы и практически здоровым людям. Концентрация сахара и жира в их крови существенно ниже, значит, накопление КПП идет намного медленнее, а следовательно, тем более трудно замедлить его еще сильнее для заметного оздоровления организма. Потенциальная польза, если и проявится, то довольно поздно, тогда как риск будет высок с самого начала.

В самом деле, одно из исследований, опубликованное уже после отказа от клинической разработки аминокетонамида¹⁷, по-видимому, показывает, что даже первоначальные сообщения об ослаблении им возрастного КПП-сшивания белков у недиабетических грызунов относятся лишь к одной линии крыс – особенно предрасположенной к поражению почек. Другим линиям пожизненно применение аминокетонамида, если и принесло какую-то пользу, то весьма незначительную.

Мы привели лишь несколько известных или предполагаемых причин, по которым сами механизмы, ведущие к образованию межбелковых сшивок,

препятствуют нашим попыткам предотвратить КПП–ение организма. Биохимическая сложность обмена веществ настолько умопомрачительна, что, столкнувшись с ней, даже самый увлеченный энтузиаст головоломок может в сердцах сломать карандаш и заняться поисками более спокойного занятия. Она вызывает серьезные сомнения в целесообразности дальнейшего вложения средств в поиск новых способов вмешательства в такую плохо понятную, разветвленную систему взаимодействий (рис.1). Учитывая запутанность нашей биохимии, образование некоторых количеств КПП попросту неизбежно, и любые попытки предупредить их накопление до уровня, снижающего эластичность тканей, не нарушая при этом жизненно важных обменных процессов, в конечном итоге, скорее всего, обречены на неудачу.

Если вы внимательно читали предыдущие главы, вы, вероятно, уже догадываетесь, какую стратегию я лично считаю предпочтительной для решения проблемы КПП как у диабетиков, так и в случае “нормального” старения. Оставьте в покое сахар крови. Не пытайтесь нейтрализовать свободные радикалы. Не ломайте голову над тем, как обхитрить обменные процессы. Вообще не *предупреждайте* образования КПП. Пропагандируемый мною инженерный подход к борьбе со старением не мешает метаболизму делать свое черное дело, попросту удаляя производимую им грязь (в данном случае КПП) до того, как она накопится до уровня, нарушающего наши функции, лишаяющего жизненно важные органы юношеской эластичности, повышающего риск инвалидности и преждевременной смерти.

К счастью, современная ситуация позволяет мне выступать в роли не мечтателя, а скорее болельщика. По крайней мере, две компании уже разработали такие “чистящие средства” и протестировали их на животных. Одно из них даже прошло несколько клинических испытаний.

☞ Счастливая случайность

За десятилетие, прошедшее с тех пор как доктора Тони Серами и Питер Ульрих впервые предположили, что межбелковые сшивки являются связью (удачная игра слов) между повышенным уровнем сахара крови при диабете и его осложнениями, они потратили немало сил на поиск путей борьбы с этой напастью.

Они были ключевыми фигурами в разработке и раннем тестировании аминугуанидина, однако еще задолго до провала АКЦИИ I поняли: реальная помощь двум специфическим группам людей с совершенно разными типами индуцированных КПП патологий требует гораздо более мощных химических агентов. С одной стороны, “очищать” диабетиков, чья болезнь прогрессировала до стадии, когда уже накопилось столько сшивок, что их *общий* уровень

приближается к порогу, означающему инвалидность и быструю смерть, надо намного агрессивнее, чем пациентов на ранних стадиях сахарной болезни. С другой стороны, у многих людей, страдающих от вызываемых КПП патологий типа артериальной гипертонии и сердечной недостаточности, сахар крови *в норме*. У этой группы концентрация предшественников КПП гораздо ниже, а значит, перехватить их намного сложнее: ситуация, напоминающая стрельбу по единственной летящей утке, тогда как у диабетиков она скорее похожа на неприцельную пальбу по затмевающим солнце птичьим стаям в первые годы европейской колонизации Америки.

В результате в конце 1991 Серами организовал в их Пиковеровском институте медицинских исследований (г. Манхассет, штат Нью-Йорк) своего рода саммит. В нем, кроме него самого, участвовали Ульрих, несколько других сотрудников этого института и ученые, работавшие на компанию “Алтеон”, формированию которой способствовал Серами. Целью встречи был мозговой штурм, направленный на поиск новых подавляющих образование КПП стратегий.

Анализ накопленных сведений о механизмах и продуктах соответствующих реакций уже подвел многих исследователей к выводу (правильному), согласно которому важными потенциальными источниками КПП –сшивок, а значит, и мишенями для анти-КПП-средств являются *высокореактивные карбонильные соединения* типа оксоальдегидов. Именно это соображение и привело к разработке аминогуанидина. Ульрих полагал, что теоретически значительная часть КПП могла бы порождаться классом высокореактивных карбониллов, известных как *Амадори-дионы* и близкие к ним *Амадори-енодионы*. В принципе такие молекулы образуются при расщеплении продуктов Амадори: потом карбонильные группы соединяют соседние белки *альфа-дикарбонильной* связью, а точнее, ее *альфа-дикетоновым* типом. По химическим причинам такая связь не должна существовать долго, однако и бесследно она не исчезает. Скорее всего, считал Ульрих, она преобразуется в более стабильную окончательную структуру – молекулярный союз, расторгаемый только смертью организма.

Если бы гипотеза Ульриха была верна, она потенциально позволяла бы разработать новую стратегию борьбы с КПП. Наш организм располагает ферментами, способными расщеплять как минимум некоторые типы дикарбонильных соединений, и многие из этих биокатализаторов включают в себя производное витамина В1, или *тиамина*. В середине 1980-х исследования украинских ученых показали, что химически близкие к тиамину молекулы (так называемые соли *тиазолия*) расщепляют аналогичного типа связи – правда, в органических химикатах, а не в возникающих из тканевых белков КПП. Присутствие тиамин во многих из упомянутых ферментов в сочетании с механизмом действия солей тиазолия приводило к логичному выводу: для борьбы с КПП необходима именно эта структура. Ее можно сравнить с одинаковым по форме

“жалом” отверток, сильно различающихся формой своих рукояток. По-видимому, активный участок тиамина электрохимически захватывает карбонильные группы соединений, служащих мишенями для включающего его фермента, после чего тот меняет свою форму, разрывая связи в субстрате.

Исходя из этого, Ульрих решил разработать новый молекулярный “инструмент”, который разрушал бы дикарбонильные связи в Амадори–диолах, тем самым лишая их способности образовывать межбелковые сшивки. Отталкиваясь от концепции тиаминоподобного активного центра, собравшиеся ученые начали обсуждать, как могли бы вести себя различные молекулярные “рычаги”, “шарниры” и “шестеренки”, обеспечивая своей структурой нужное взаимодействие с Амадори–диолами. Ульрих стоял у доски, графически иллюстрируя высказываемые предположения.

В конечном итоге ученые пришли к базовой схеме класса молекул, которые теоретически могли бы расщеплять связи Амадори–дионов, по всей вероятности, присутствующих в нашем организме. Затем они занялись разработкой конкретных вариаций на заданную тему, так сказать, приделывая различные “конечности” к “становому хребту” этой структуры.

К окончанию марафонского совещания специалисты из “Алтеона” получили результаты, пригодные для предварительного тестирования. Доктор Джек Иган поручил нескольким сотрудникам этой фирмы синтезировать экспериментальные количества каждого из предложенных учеными соединений, а также и некоторых модельных Амадори–дионов. Следующим этапом стала серия простых тестов: небольшие количества расщепляющих молекул добавляли в пробирки с этими предшественниками КПП и смотрели, будет ли подавляться их превращение в более стабильные структуры.

Однако оказалось, что “просто” не значит “быстро”. Проведя десятки тестов с различными концентрациями реагентов и еще не исчерпав всего запланированного объема исследований, Иган стал задумываться об ускорении этой работы. Вместе со своей сотрудницей Сарой Вазан он придумал альтернативный метод. Не вполне ясно было, станет ли этот метод работать, но он наверняка позволил бы сэкономить массу времени и усилий.

Поначалу новая процедура, казалось, оправдывала ожидания. На нее была переведена значительная часть экспериментов, и вскоре накопился достаточно внушительный массив данных, позволявший ожидать, что где-то в его глубинах кроется ответ на поставленные вопросы. Вазан собрала полученные результаты и начала оформлять их для дальнейшего анализа и возможной публикации.

И снова поначалу казалось, что налицо вполне логичные выводы: в пробирках обнаруживались разные количества КПП, а значит, их образование в той или иной степени подавлялось протестированными “лекарствами”. Одна-

ко ряд результатов, похоже, сильно выпадал из этой стройной схемы. Уровни ожидаемых продуктов реакции сильно превышали то, что можно было бы объяснить небольшой разницей в концентрации реагентов и других факторов относительно условий сходных тестов с теми же самыми соединениями. С химической точки зрения это было абсурдом.

Стесняясь предлагать такие данные начальству и опасаясь, что она попросту где-то недосмотрела или эксперименты неправильно проведены ею самой или кем-то из ее сотрудников, Вазан показала необычные результаты Игану. Он согласился с их абсурдностью, и они вместе вернулись к лабораторным записям, решив снова все перепроверить.

Вскоре выяснилось, что необъяснимые результаты получаются только в экспериментах с использованием новой ускоренной методики. Иган и Вазан проанализировали ее в поисках неувязки, очевидно, сравнимой со сбоем в бухгалтерской программе, который вдвое завывает ваш доход и, соответственно, сумму налогов. В конце концов, они нашли ошибку в последних этапах исходного получения модельных Амадори-дионов. Если бы ее не было, реакции, идущие в пробирке, в нужный момент останавливались бы с сохранением искомым продуктов. Однако на самом деле они шли дальше, давая альфа-дикетоны вместо их ожидавшихся предшественников. Иными словами, биохимический суп “перестаивался”, превращаясь в массу готовых прочных связей с очень небольшим количеством или полным отсутствием интактных Амадори-дионов, на которые должны были действовать антикарбонильные соединения Ульриха.

Однако Иган и Вазан сомневались, что эта ошибка единственная: она не могла полностью объяснить аномальные результаты ингибирующих тестов. Эти результаты сначала выглядели нормальными: после смешивания ингибиторов с предшественниками КПП скоростной метод приводил к появлению остатков расщепленных Амадори-дионов, всплывающих в пробирках подобно молекулярным обломкам кораблекрушения. Но откуда мог взяться подобный химический мусор, если, как только что говорилось, Амадори-дионов для разрушения тиазолиевыми ингибиторами в исходном материале практически не оставалось.

И тут их осенило! Объяснение смотрело им в лицо: его химия была бы очевидной, если бы они не проводили эксперименты, заранее представляя себе, какие реакции должны наблюдаться. Присутствие карбонильных фрагментов, которые должны оставаться при расщеплении тиазолиевыми ингибиторами Амадори-дионов, *ожидавшихся* в пробирках, но на самом деле там отсутствовавших, приводило Игана и Вазан к единственному логичному выводу: ингибиторы, действительно, работают, но делают не то (точнее, не только то), что запланировано. Очевидно, источником обнаруживаемых карбонильных фрагментов являются не сами дионы, а альфа-дикетоновые связи, получающиеся в

результате ошибки при производстве исходные реагентов. Значит, *модельные лекарства расщепляют эти связи!*

Однако Иган не испытывал желания кричать “Эврика!” и не только потому, что альфа–дикетоны, по его мнению, не могли существовать достаточно долго для взаимодействия с ингибиторами Ульриха. Он не испытывал ни интеллектуального удовлетворения, ни особого любопытства. Его мучили мысли о впустую потраченном времени. Теперь надо было заново синтезировать Амадори–дионы, вероятно, используя исходную медленную методику, и снова проводить опыты с их ингибиторами.

Скрывать происшедшее не имело смысла. Иган позвонил Серами, объяснил ему ситуацию, извинился за напрасно потраченное время и подчеркнул, что все расходы берет на себя его фирма.

Иган был более чем уверен: от него потребуют продолжения заказанного эксперимента, поскольку никакой ученый не откажется от проверки своей гипотезы. Однако реакция на его сообщение выглядела странно. Доктор настаивал на дополнительных деталях неудачного опыта, на выкладках, легших в основу выводов Игана, и даже на его соображениях относительно механизма взаимодействия тиазольевых соединений с альфа–дикетонами. К сожалению, у того не было на этот счет никаких ценных идей: он был практиком, а не теоретиком. Иган просто вздохнул от облегчения: похоже, любопытство Серами перевешивало его вполне законное разочарование.

Тот в свою очередь, повесив трубку, откинулся в кресле и попытался обуздать скачущие мысли. Он ничего не упустил? Хватит ли у него смелости поверить в сказанное Иганом – и представить вытекающие из этого последствия?

Дрожащими пальцами Серами набрал номер Питера Ульриха. Как же долго партнер не поднимает трубку! Наконец раздался долгожданный щелчок. “Ульрих”, – произнес знакомый голос на другом конце провода.

“Питер? – переспросил Серами, с трудом заставляя свой голос звучать более ли менее спокойно. – Ты можешь объяснить мне, как одно из твоих соединений расщепляет КПП–сшивки?”

☞ От теории к практике

Следующие несколько недель Ульрих изучал методику Игана и результаты Вазан, обдумывая возможный сценарий расщепления испытывавшимися тиазольевыми соединениями зрелых КПП с альфа–дикетонавыми сшивками. Наконец, он решил, что химическое объяснение найдено.

Если неожиданные результаты подтвердятся, значит, пора подумать о банкете. Благодаря лабораторному союзу Пиковеровский институт и фирма “Алтеон” совершили не один, а сразу два революционных переворота в био-

химии КПП: одного чисто теоретического, а другого с огромным потенциалом для практической медицины. Во-первых, эти результаты подразумевают, что альфа-дикетоновые КПП могут быть довольно стабильными, т.е. сохраняться в организме достаточно долго для участия в повышении жесткости тканей даже без дальнейших химических превращений. Во-вторых, удалось случайно разработать класс молекул, которые не только *предупреждают* образование КПП, но и фактически *распиливают* эти межбелковые ковалентные связи.

Биомедицинские перспективы были ошеломительными. Представьте: пациентам, чье тело уже насквозь задубело от межбелковых сшивок, получают *расщепляющее КПП* лекарство. Кандалы падают, и освобожденные от них ткани на глазах молодеют. Артерии легко расширяются под напором выталкиваемой в них крови, сердце работает с удвоенной силой, даже кожа снова становится упругой. О таком средстве могут только мечтать не только пациенты с запущенным диабетом, но и все, у кого высокий уровень КПП накопился не из-за сахарной болезни, а просто с *возрастом*. Рынок обещает быть поистине безграничным.

Педантичный химик в Ульрихе вернул его от сладких грез к конкретным шагам по их реализации. Для начала “Алтеон” должен повторить проделанные эксперименты, проследив за происходящими на каждом их этапе реакциями и получив таким образом данные в пользу предлагаемого им теоретического объяснения исходных результатов. Кроме того, до сих пор работы велись с КПП, полученными в лабораторных условиях. Неизвестно, могут ли *хоть какие-то* альфа-дикетоновые сшивки (не говоря уже о вполне определенных молекулах, случайно синтезированных Вазан) накапливаться в человеческом организме до уровней, нарушающих его функции. Кроме того, оставался вопрос, способны ли его ингибиторы воспроизвести в нашем теле эффект, наблюдаемый в лаборатории. Не приведут ли натуральные механизмы детоксикации к их превращению в неактивные формы? Не окажутся ли терапевтические дозы этих средств слишком высокими для практического использования?

Ответы на первые вопросы удалось получить, предельно аккуратно повторив исходные эксперименты Игана и Вазан. Их результаты соответствовали ожиданиям и подтверждали одну из основных гипотез: судя по всему, модельные Амадори-дионы, действительно, давали КПП, достаточно стойкие, чтобы реагировать с тиазолиевыми соединениями, а те в свою очередь на самом деле расщепляли сшивки, образуемые альфа-дикетоновыми мостиками. Обнаружился и наиболее эффективный инструмент для разрушения этих кандалов – вещество под названием *N-фанацилтиазолия бромид* (ФТБ).

Однако его способность расщеплять искусственные КПП еще не означала такого же действия на шивки, которые скрепляют артерии, сердце и прочие органы диабетиков и просто стареющих людей. Наступил момент для более активного вмешательства Серами – члена команды с более медицинским складом мышления. Вместе с Ульрихом он разработал серию все более сложных тестов на моделях, постепенно приближающихся к живым системам, шаг за шагом ведущих исследователей от опытов на отдельных клетках к изучению живых организмов.

☞ Кандалы спадают

Эти необходимые эксперименты были снова отданы на откуп сотрудникам Джека Игана из фирмы “Алтеон”, в чьей лаборатории впервые подтвердилась способность ФТБ расщеплять КПП – на изолированных сшитых белках и культурах тканей. Каждый этап исследований добавлял ученым оптимизма, и в конечном итоге они перешли к работе с диабетическими лабораторными грызунами. Когда группа Игана ввела им свое новое соединение, результаты снова оказались положительными: в первую же неделю уровни гликированных белков в эритроцитах животных упали более, чем на треть, и продолжали снижаться, достигнув через три недели половины их исходного количества и всего 40% к концу месяца. Мысли о банкете становились навязчивыми!

Вооружившись такими результатами, специалисты из “Алтеона” начали делать инъекции ФТБ грызунам с сердцем, почками и артериями, затвердевшими из-за накопления КПП в течение нормальной, неотягощенной хроническими болезнями жизни или ускоренными темпами – в результате диабета. Тут их ждал настоящий триумф: лекарство более чем оправдывало возлагавшиеся на него надежды, *восстанавливая* утраченную эластичность сердечно-сосудистой системы, а не просто *замедляя* неминуемое возрастание ее жесткости, как наблюдалось при испытаниях аминуганидина. Структурно ткани подопытных животных становились мягче и растяжимее; они легко растворялись при обработке пищеварительными агентами; функционально сердце сильнее расширялось при заполнении кровью, а артерии пропускали через себя пульсовые волны без резкого “рикошетного” сужения, характерного для старых сосудов.

Однако оставалась одна проблема: ФТБ слишком нестабилен для лечения человека: пока препарат проходит через пищеварительную систему и сложный биохимический аппарат метаболизации, действующего вещества для существенного терапевтического эффекта остается недостаточно. Тем не менее, Ульрих не собирался отказываться от такого перспективного сое-

динения. Вместе с химиками из “Алтеона” он сумел внести в исходную молекулу некоторые изменения, получив не только более устойчивое, но и более активное средство: 4,5-диметил-3-(2-оксо-2-фенилэтил)-тиазолия хлорид. Для удобства его окрестили просто АЛТ-711 (т.е. 711-ое соединение фирмы “Алтеон”), а позднее переименовали, придумав более “рыночное” название *алагебриум*.

Лекарство, способное расщеплять КПП, уже сформировавшиеся в организме, нашло бы применение как при диабете, так и при широком спектре возрастных патологий, однако правилами предусмотрено единовременное утверждение медикаментов только для вполне специфических показаний. Желая застолбить своему средству максимально эксклюзивную нишу, стратеги из “Алтеона” решили рекомендовать алагебриум для состояний, которые не излечивались существующими препаратами и, как ожидалось, реагировали бы исключительно на их новинку.

Одной из таких патологий была *изолированная систолическая гипертония* (ИСГ), при которой верхнее (*систолическое*) артериальное давление (т.е. большее число при его стандартном измерении, дающем, например “110 на 80”) повышено, а нижнее (*диастолическое*) остается в норме. Систолическое давление возникает в артериях, когда кровь выталкивается в них при сокращениях (систолах) сердца, а диастолическое поддерживается там при его расслаблениях (диастолах). Гормональные и иные факторы могут активно напрягать стенки артерий (сокращая их мускулатуру), повышая оба этих показателя, независимо от исходной эластичности сосудов. Однако, если систолическое давление аномально высокое, а диастолическое нормальное, можно уверенно говорить, что *сами артерии* стали слишком жесткими, не способными адекватно растягиваться при выталкивании в них крови.

Такое неатеросклеротическое уплотнение артерий должен вызывать тревогу не только у людей с диагностированной ИСГ. У любого перешагнувшего средний возраст человека жесткость артерий повышается и со временем начинает предрасполагать к сердечно-сосудистым заболеваниям (особенно к *кризисным* состояниям типа инсульта или инфаркта миокарда), даже в большей степени, чем многие классические факторы риска, в том числе избыток холестерина и гипертония. В США Управление по контролю за качеством пищевых продуктов, лекарств и косметических средств (FDA) не признает этот “нормальный” эффект старения “болезнью”, для которой допустимо утверждать специфические лекарства. Люди из “Алтеона” понимали, что никогда не получают официальной санкции на применение своего алагебриума против такого состояния, однако они знали и другое: добившись разрешения использовать препарат про-

тив ИСГ, т.е. разбивать кандалы КПП в артериях, восстанавливая их эластичность и способность адекватно растягиваться при систолических выбросах крови, можно будет впоследствии существенно расширить рынок, исподволь рекомендуя врачам поощрять его “неофициальное” применение многими тысячами немолодых людей с возрастным уплотнением артерий.

Еще одна болезнь, которая пока не слишком эффективно лечится, но, по всей видимости, существенно облегчалась бы расщепляющими КПП средствами, – это *диастолическая сердечная недостаточность* (ДСН). Более распространенная *систолическая* ее форма связана с ослаблением желудочков сердца, которые теряют способность выталкивать в артерии достаточно крови для адекватного обеспечения организма кислородом и питательными веществами. Однако примерно у трети пациентов с сердечной недостаточностью эта *насосная* функция совершенно нормальна, а проблема заключается в недостаточной растяжимости желудочков для заполнения их нужным количеством крови. В результате даже при практически полном их опорожнении во время систолы организм не получает того, что ему причитается. В обоих случаях *результат* один и тот же (в первую очередь кислородное голодание тканей), но, поскольку *причины* разные, лекарства, прекрасно справляющиеся с систолической сердечной недостаточностью, не помогают страдающим от ДСН пациентам. Хотя снижение растяжимости сердца может быть обусловлено разными факторами, во многих случаях оно связано именно с накоплением в нем КПП. А значит, расщепляющая эти сшивки терапия – единственный способ восстановления его растяжимости. Более того, испытания, демонстрирующие ее способность повышать эластичность затвердевших просто от возраста тканей сердца означает потенциальную применимость такого подхода для улучшения состояния и остального “практически здорового”, но неуклонно стареющего человечества.

Алагебриум быстро продемонстрировал свои возможности, делая все то, на что способен ФТБ, и даже больше. В исследованиях его добавки к питьевой воде подопытных животных восстанавливали эластичность их сердца и артерий в той же степени, какая достигалась только при инъекциях ФТБ, и переносился при этом легче. У него обнаружилось и уникальные способности. Например, ФТБ расщеплял *некоторые* КПП, накопившиеся в почках диабетических грызунов, но этого было недостаточно для восстановления их функции. Лечение тех же животных алагебриумом не только повышало растворимость в почках коллагена, но и ослабляло их фиброзное поражение, облегчая отфильтровывание белков крови и предупреждая их выделение с мочой (протеинурию).

Причем грызуны были лишь первыми в череде млекопитающих, которым помогал алагебриум. Специалисты “Алтеона” вскоре доказали его способность омолаживать сердце и кровеносные сосуды у собак и мартишек. С точки зрения перспектив алагебриума как средства борьбы со старением эти исследования были гораздо информативнее всех предыдущих по двум причинам. Во-первых, они проводились на животных, у которых шло “нормальное” старение, – в отличие от грызунов с тяжелым диабетическим статусом. Во-вторых, собаки и приматы живут намного дольше грызунов, поэтому с возрастом у них накапливаются такие же патологические изменения сердечно-сосудистой системы, как и у стареющего человека. Следовательно, и с теоретической, и с клинической точки зрения они являются лучшей моделью наших с вами стариковских недугов.

Как и у пожилого человека, желудочки сердца старой собаки растягиваются, принимая кровь, хуже, чем у молодого животного. В результате ее объем в них уменьшается, а давление одновременно возрастает. Иными словами, старые собаки страдают от слабой ДСН. Когда таким животным в течение месяца давали умеренные дозы алагебриума, эластичность их сердца возросла примерно на 42%, что выразилось в увеличении объема крови, способной заполнить их желудочки без какого-либо повышения в них давления. Улучшение стало еще более заметной, когда количество *поступающей* в желудочки крови увеличили специальными лекарствами. До применения алагебриума такое вмешательство только подчеркивало разницу в диастолической функции между молодыми и старыми животными, а через несколько недель терапии этим средством податливость желудочков в обеих возрастных группах почти сравнялась¹⁸.

Результаты, полученные на наших близких родственниках обезьянах, были еще более впечатляющими¹⁹. В 2001 исследователи из “Алтеона”, работавшие вместе с кардиологами из Национального института старения (НИС), а также со специалистами НИС, которые изучали на приматах эффекты старения и ограничения калорийности рациона, опубликовали данные по действию алагебриума на сердечно-сосудистую систему макак-резусов. Подопытные животные были старыми, но по обезьяньим меркам “здоровыми”, в частности не страдавшими диабетом.

Сначала определялась исходная эластичность их артерий и сердца (по степени его растяжимости во время диастолы). Потом обезьяны в течение трех недель через день получали дозы алагебриума. После этого на протяжении девяти месяцев с интервалом в несколько недель перепроверялась эластичность сердечно-сосудистой системы.

Как ни странно, заметных изменений систолического и диастолического давления не отмечалось. Однако через три недели после лечения ткани сердеч-

но-сосудистой системы стали явно податливее (“моложе”). Этот эффект был еще выраженнее через полтора месяца. По данным грубого, но простого тестирования, эластичность артерий возросла на целых 60%; более точная оценка показала улучшение этого показателя на 25%. Одновременно увеличилась и растяжимость сердца: в фазе диастолы оно стало принимать на 16% больше крови. Аналогичным образом алагебриум улучшил и другие показатели сердечной функции, хотя бы частично зависящие от диастолического заполнения.

От лекарства не ожидали профилактики образования *новых* связей между сахарами и белками, поэтому не удивительно, что после его отмены описанные результаты постепенно исчезли. Молекулярные кандалы сковывают ткани с неизменной скоростью – просто алагебриум тут же их разбивает. Через несколько недель после пика индуцированного им у маргышек повышения эластичности артерий эти сосуды снова были такими же жесткими, как и в начале эксперимента. Улучшение диастолической функции сердца наблюдалось несколько дольше, но и она стала возвращаться на исходные позиции. Отмена алагебриума не сделала состояние обезьян хуже, чем до эксперимента, однако четко продемонстрировала: расщепленные им сшивки быстро восстанавливаются. Следовательно, для поддержания эластичности сердечно-сосудистой системы (как минимум) его придется принимать пожизненно и почти непрерывно.

Однако это никого особенно не огорчило. Результаты исследований говорили о бесспорных достоинствах алагебриума: токсичность низкая, серьезных побочных эффектов не наблюдается, перспективы лечения упорных болезней очевидны.

Можно приступить к клиническим испытаниям на людях.

❧ Неприятный сюрприз

Первое испытание алагебриума на человеке, результаты которого были опубликованы в 2001 в престижном журнале Американской кардиологической ассоциации “Серкьюлейшен” (“Кровообращение”)²⁰, выглядели, как прикидочная попытка сделать нечто большее. У 73 пожилых мужчин и женщин с признаками атеросклероза измерили кровяное давление и эластичность сосудов, после чего этих людей разделили на две случайно составленные (рандомизированные) группы. В течение двух месяцев две трети пациентов получали таблетки алагебриума, а остальные – неотличимые внешне пилюли без активного вещества (плацебо-контроль). Через месяц и в конце испытания измеренные в начале параметры перепроверили.

Результаты были не вполне четкими и допускали различные интерпретации, однако это исследование по самой своей природе считалось пред-

варительным, и большинство специалистов, учитывая несомненные успехи, достигнутые в опытах на животных, предпочло толковать любые сомнения в пользу эффективности лекарства. Систолическое и общее артериальное давление снизилось в *обеих* группах, вероятно, в связи с необычно сильным “платцебо–эффектом”, т.е. *верой* в пользу принимаемых таблеток, которая, как уже давно известно, сильно влияет на состояние гипертоников. В любом случае, объективный вывод заключался в отсутствии заметного действия алагебриума на давление в сосудах. В то же время оценка по двум разным показателям эластичности артерий говорила о ее улучшении у получавших лекарство людей по сравнению с платцебо–контролем. Однако один из методов измерения был раскритикован с технической точки зрения, и сам характер *сопоставления* групп делал его результаты неубедительными.

Впрочем, обобщение данных дальнейших испытаний позволило прийти к более определенным выводам. К разочарованию “Алтеона” они наводили на мысль о том, что алагебриум никогда не будет официально одобрен для клинического использования. Эти ранние клинические испытания^{21,22,23,24} охватывали более тысячи пациентов с ИСГ, ДСН, систолической сердечной недостаточностью (иногда в сочетании с компенсаторным разрастанием левого желудочка) и даже с эректильной дисфункцией, а также несколько здоровых индивидов. Результаты достаточно четко указывали на безопасность алагебриума и его способность расщеплять КПП, однако такой эффект был явно недостаточен для заметного *функционального* улучшения. Изменения диастолической податливости сердца не впечатляли; особой пользы от повышения эластичности артерий не наблюдалось; влияние собственно на гипертонию, если и отмечалось, то минимальное. Зачастую главная цель испытаний оставалась недостигнутой, а улучшение касалось в основном второстепенных показателей, слабо связанных с клиническим исходом патологии (развитием ишемической болезни, инфарктом миокарда, инсультом). Более того, наблюдаемое улучшение не демонстрировало четкой зависимости от дозы лекарства. А это нелогично, поскольку, учитывая химический характер расщепления КПП, добавка в систему одного из реагентов (алагебриум) должна ускорять процесс. Значит, чем больше в организме лекарства, тем – теоретически – свободнее ткани от межбелковых сшивок, эластичнее сердце и артерии.

Накопленные на сегодняшний день результаты исследований, по крайней мере, на животных, как будто четко указывают на расщепление алагебриумом КПП. Остается вопрос, почему эта, казалась бы, явная польза не ведет у людей к существенному улучшению сердечно–сосудистой функции, наблюдавшемуся у других видов млекопитающих.

Некоторые специалисты считают, что алагебриум на самом деле не *расщепляет* КПП, а *подавляет* их образование, т.е. действует именно так, как и

предполагалось изначально Ульрихом и его коллегами. Такая точка зрения, хотя и выглядит правдоподобной, опровергается неоспоримым фактом: лекарство не просто *замедляет* развитие у грызунов диабетических осложнений и *предупреждает* обусловленное сшиванием белков снижение эластичности сердечно-сосудистой системы у нормально стареющих собак и мартышек. Оно *обращает вспять* патологические процессы. А агент, который только *подавляет* сшивание белков, снижал бы скорость образования новых сшивок и *дегенерации* тканей, но не давал бы быстрого *восстановительного* эффекта, наблюдавшегося при использовании алагебриума.

То, что постле его отмены ткани животных снова на глазах повышают свою жесткость, тоже, очевидно, противоречит гипотезе о чисто ингибиторных свойствах лекарства. В самом деле, скорость восстановления межбелковых сшивок явно намного выше, чем темпы их исходного многолетнего накопления. А значит, расщепление альфа-дикетонных мостиков в КПП ведет к появлению сохраняющих связь с белками высокореактивных карбонильных групп, которые быстро “склеиваются”. Присутствующий в организме алагебриум тут же снова их расщепляет, и в результате процесс в целом развивается по принципу “шаг назад – два шага вперед”, что выражается в улучшении клинических показателей. Однако удаление из этой системы лекарства означает быстрый возврат к исходному шитому состоянию.

Второе объяснение связано с неспособности исследователей обнаружить альфа-дикетонные сшивки в человеческом организме. Причина почти наверняка в нестабильности таких структур. Трудность при создании расщепляющих КПП средств не в недостатке химикатов, способных разрывать тот или иной тип сшивок. Непросто выбрать среди агентов такой, который бы не разрушал при этом нормальных, функциональных белков. Стандартные методики измерения уровня КПП в организме подразумевают воздействие на образец ткани сильной кислотой. Она оставляет нетронутыми самые стойкие КПП типа *пентозидина*, без следа разрушая более слабые сшивки.

Уже давно подозревалось, а в недавно окончательно подтвердилось, что грубость такого анализа серьезно искажала результаты исследований КПП. В последнее десятилетие стали применяться новые методики выявления в тканях КПП-сшивок, включающие трудоемкий процесс чуть ли не поочередного расщепления нормальных химических связей, оставляющий в конечном итоге только *патологические* их типы, в частности КПП. Используя этот подход, исследователи доказали, что КПП, считавшиеся ранее самыми обильными, просто наиболее устойчивы к химической ковровой бомбардировке, традиционно применявшейся для выявления подобных сшивок. Как выяснилось, легко выявлявшиеся КПП (типа пентозидина) на самом деле достаточно редки и вносят сравнительно небольшой вклад в общее затвердение тканей, тогда как гораз-

до более распространенные сшивки (т.е. намного сильнее влияющие на функции живого организма) обычно оставались недоступными для тестирования.

На мой взгляд, это объясняет нашу сохраняющуюся до сих пор неспособность к количественному анализу молекулярных мишеней алагебриума. Предполагаемая структура альфа-дикетонových сшивок такова, что они *сравнительно* легко разрушаются. В самом деле, если помните, Питер Ульрих с самого начала не считал их достаточно долговечными для использования в качестве объектов лекарственного воздействия.

Парадоксальная разница в функциональном влиянии алагебриума на людей, с одной стороны, и на лабораторных грызунов, собак и маргышек, с другой, могла бы объясняться просто гораздо большим, чем у человека, распространением альфа-дикетонových сшивок у перечисленных подопытных животных. Очевидно, метаболические пути образования КПП у каждого вида своеобразны. Например, как упоминалось выше, у диабетических крыс окислительный стресс гораздо сильнее, чем у людей с сахарной болезнью. А это должно влиять не только на *пути* образования КПП, но и на то, *какие конкретно сшивки* возникают в конечном итоге. Вероятно, структур, формирующихся с участием свободных радикалов, в крысиных тканях накапливается гораздо больше, чем в человеческих.

Еще одна причина считать альфа-дикетонové сшивки не такими важными для людей, как для подопытных животных, – просто наша гораздо большая продолжительность жизни. Стойкие КПП типа пентозидина накапливаются с возрастом более или менее линейно. В результате, хотя у долгоживущих организмов повышение их концентрации идет *медленнее*, чем у недолговечных, *абсолютные уровни* таких КПП к старости в первом случае будут выше просто из-за более продолжительного периода, отпущенного природой на их образование. Как видно из рис. 2, к 14 годам у “предельно старой” собаки обнаруживается примерно 40 условных единиц пентозидина на 1 мг коллагена, тогда как у мини-свиньи такого же возраста (но прожившей лишь половину своей жизни) – всего 15 единиц. Маргышка может дотянуть до 40 лет и к 10 годам накапливает лишь 5 единиц пентозидина. У человека с максимальной продолжительностью жизни за сотню образование этого КПП идет еще медленнее. Однако к 60, когда межбелковые сшивки начинают серьезно влиять на наши шансы прожить каждый следующий год, кожа людей накапливает порядка 50 единиц пентозидина на 1 мг коллагена – больше, чем у любого из менее долговечных животных.

А теперь вспомним: в отличие от сверхпрочных КПП типа пентозидина альфа-дикетонové сшивки – именно те, что расщепляются алагебриумом – относительно нестабильны, следовательно, их уровень определяется динамическим равновесием между быстрым образованием и разрушением таких структур. Как и в случае любых КПП, возрастное ослабление мета-

большинство контроля за клеточным топливом, по-видимому, постепенно ускоряет первый процесс, однако и противоположный сохраняет свою интенсивность. А в результате повышение уровня таких нестабильных сшивок идет гораздо медленнее, чем рост концентрации пентозидина.

Суммарный итог всего этого следующий: к старости, когда индуцированное КПП отверждение тканей достигает угрожающих жизни масштабов, роль их альфа-дикетоновых типов в этом процессе (а значит, и в ухудшении функций организма) у долгоживущих видов вроде нашего не так велика, как, скажем, у собак и мартышек (не говоря уже о мышах) – просто потому, что стойких КПП мы успеваем накопить гораздо больше, чем эти животные. В результате агенты, разрывающие альфа-дикетоновые мостики, несмотря на свою неизменно высокую эффективность на молекулярном уровне, оставляют у человека – по сравнению с модельными организмами – удручающе много *других* межбелковых сшивок. Этим и объясняется низкая эффективность алагебриума с точки зрения омоложения тканей – восстановления их былой эластичности и функциональной компетентности.

☞ Алагебриум и не только

Итак, какое же место остается у алагебриума в нашем противозрастном арсенале? Очевидно, отсутствие его четкой клинической пользы в случае человека означает, что это средство не может играть существенной роли в омоложении наших тканей. Однако оно доказало правомерность исходной гипотезы: *можно* расщеплять КПП внутри организма и омолаживать его, даже спустя многие годы после того как обменные процессы начали свою грязную работу по сшиванию белков. Требуются лишь новые поколения агентов, которые разрушали бы более обильные типы КПП, освобождая наши ткани от оков, которые реально снижают их эластичность. Такие лекарства приносили бы людям такую же пользу, какую получают подопытные животные от алагебриума, т.е. уже продемонстрированную в отношении диабета, ИЗГ, ДСН и, в конечном итоге, собственно процесса старения.

Важно подчеркнуть, что никакое *единственное* средство не спасет нас от появления межбелковых сшивок. Как было показано, гликирование ведет к образованию множества КПП с различной структурой. Лекарство, расщепляющее любой конкретный тип сшивок, скорее всего, оставит большинство других нетронутыми. Ни одна молекула не способна атаковать сразу все различные по природе химические связи. Следовательно, как и в случае рассмотренных в гл.8 амилоидов, понадобится разработать целый спектр средств, каждое из которых будет действовать в лучшем случае на небольшую группу близких по структуре сшивок. Однако даже необходимость в

большом количестве таких лекарств не означает, что мы не сможем практически остановить отрицательное действие КПП на наши артерии, сердце и другие органы еще до того, как вооружимся инструментами для расщепления всех типов этих молекулярных оков организма. “Инженерная” школа противозрастной биотехнологии основана на принципе, согласно которому для вмешательства в процесс старения не обязательно решать все проблемы сразу. Можно “омолаживаться на ходу”, занимаясь возникающими задачами по очереди.

Для понимания правомерности такого подхода достаточно вспомнить, что возрастные молекулярные повреждения начинаются еще во внутриутробном периоде, однако лет до 30 мы остаемся достаточно молодыми. Значит, накопление ущерба до уровня, нарушающего работу организма, требует нескольких десятилетий жизни. Пока этот порог не достигнут, любая форма возрастного поражения *сама по себе* для нас безвредна.

Следовательно, для восстановления достаточной эластичности органов можно расщеплять не все типы КПП–сшивок, а только те, которые сильнее всего повышают жесткость тканей. С практической точки зрения омоложение произойдет, как только распадется определенная *доля* КПП, и их *общий* уровень станет ниже порога, нарушающего наши функции.

Располагая средством, расщепляющим один конкретный тип сшивок, мы освободимся от их губительного влияния. Естественно, не раз и навсегда: курс лечения придется повторять с интервалом с несколько лет или десятилетий, принимая медикамент в течение недель или месяцев – достаточно долго для разрушения *доли* КПП, достаточной для возвращения тканям юношеской эластичности. Сшивки тут же начнут снова накапливаться, однако мы вполне можем им это *позволить* – до очередного приближения к патологическому порогу. (Очевидно, такой сценарий предполагает химически инертное состояние расщепленных КПП, чего алагебриум в случае альфа-дикетонов явно не обеспечивает. Если “обрывки” сшивок останутся высокореактивными и сразу же начнут “склеиваться”, лекарство придется принимать непрерывно.) Первый эффективный расщепитель КПП не решит проблемы полностью. Вероятно, он будет одобрен как лекарство лишь благодаря своей способности ликвидировать самый обильный тип сшивок, не влияя на остальные. Они продолжат беспрепятственно накапливаться, однако общие темпы отверждения тканей снизятся. Следовательно, оно достигнет патологического порога в возрасте, намного превышающем тот, в котором наблюдается сейчас, когда нетронутые сшивки действуют на нас *вместе* с теми, которые окажутся разрушенными первым анти–КПП–средством.

Да, потребуются определять разные типы КПП и против каждого из них разрабатывать свои лекарства. Однако с инженерной точки зрения важно

учесть, что такая *биомедицинская проблема* возникнет уже тогда, когда первое поколение противовозрастных средств (в том числе и расщепляющих КПП) уже существенно увеличит продолжительность нашей жизни. Первый же агент, освобождающий организм от обильных межбелковых сшивок, даст нам достаточно времени для выявления прочих типов КПП и создания средств, позволяющих избавляться от них по очереди.

В конечном итоге мы придем к пожизненному курсу анти-КПП-средств, напоминающему нынешнюю детскую вакцинацию. Будем получать несколько лекарств, расщепляющих различные сшивки, каждое в соответствии со своим циклом приема продолжительностью в несколько лет, десятилетий, а, возможно, и столетий – в зависимости от скорости образования и локализации их мишеней в организме. Однако для первого существенно скачка к восстановлению юношеской эластичности наших тканей нужно будет лишь определить, какое из таких средств потребуется первым – какие из КПП доставляют нам самые серьезные проблемы на протяжении нынешней жизни.

В этой главе мы обсуждали только КПП, но аналогичная логика применима ко всему спектру инженерных противовозрастных стратегий. К этому вопросу мы еще вернемся в гл.14.

☞ Знать врага в лицо

Сейчас впервые в истории мы можем приступить к разработке таких лекарств на рациональной основе. Прошло чуть больше десятилетия с того момента, как Питер Ульрих и химики из “Артеона” занялись разработками, приведшими к появлению алагебриума, однако они шли к цели на ощупь. Они даже не знали наверняка, существуют ли в организме КПП, на которые нацелено их средство. Они просто *догадывались*, исходя из результатов пробирочных экспериментов, что такие сшивки могут возникать в живых тканях и снижать их эластичность. Сейчас новые, уже упоминавшиеся мною ферментативные подходы позволяют нам медленно, слой за слоем демонтировать собственный организм на молекулярном уровне, определяя характер, локализацию и концентрацию различных типов КПП-сшивок, вытаскивая наших не известных ранее противников, как говорится, “за ушко на солнышко”.

Исследователи, разработавшие и применившие эти трудоемкие методики для анализа стареющих человеческих тканей, снабдили нас приоритетными, уже взятыми под прицел мишенями. Одна из них – сложная структура под названием *глюкозепан*, обнаруженная только в 1999²⁵. Другой КПП, обнаруженный этим новым способом и, возможно, заслуживающий особо-

го внимания, – К2Р, накапливающийся в хрусталике глаза и, не исключено, также в других тканях²⁶. Глюкозепан – самая обильная из известных на сегодняшний день сшивок в нашем организме, связывающая до 20% молекул важнейшего структурного белка *коллагена* у старых людей, не страдающих диабетом. Уровень этого КПП примерно в сто раз выше, чем любого другого, выявленного ранее в коллагене или хрусталике. Лекарство, которое освободило бы нас от таких оков, снизило бы общий уровень межбелковых сшивок гораздо сильнее, чем алагебриум, а, следовательно, было бы намного эффективнее его с точки зрения восстановления эластичности и функциональности тканей.

Сейчас, даже продолжая пользоваться при разработке расщепляющих КПП средств теми же дедовскими методами молекулярной инженерии, что и Ульрих со своими коллегами в начале 1990-х, мы в состоянии создавать химические “кусачки”, нацеленные на вполне *конкретные* КПП с точно известной структурой, будучи при этом уверенными как в присутствии таких соединений в организме, так и в их существенной биомедицинской роли, т.е. в весомом вкладе данного типа сшивок в возрастное отверждение наших тканей.

Наше преимущество также в ускорении методов проверки высказываемых гипотез. Мы можем моделировать на компьютере действие различных анти-КПП-средств и автоматически генерировать всевозможные вариации их главной молекулярной темы. Роботизация и механизация лабораторных процессов позволяют быстро и точно синтезировать тысячи ампул экспериментальных лекарств и испытывать их действие на известных виновниках снижения эластичности нашего сердца и других органов.

Точное знание химической структуры глюкозепана дает нам еще одно преимущество при разработке противоядия, о котором, безусловно, столько лет назад мечтал Ульрих. Как уже говорилось, главная сложность при разработке клинически применимых средств против КПП не в дефиците веществ, способных расщеплять межбелковые сшивки: сильные кислоты, использовавшиеся в ранних исследованиях, даже слишком хорошо справляются с этой задачей. Проблема заключается в создании лекарств, которые действовали бы *избирательно*, не повреждая здоровые биомолекулы, увы, тоже уязвимые для многих расщепляющих КПП агентов. Сейчас, точно реконструировав структуру глюкозепана, биохимики могут оценить, насколько узко специализированными должны быть создаваемые ими молекулярные ножницы.

К счастью, в данном конкретном случае особой специализации не требуется. Глюкозепан по своему строению настолько отличается от любых функциональных структур млекопитающих, что избирательно расщепляющее

его лекарство наверняка окажется безопасным для жизненно важных соединений нашего организма.

Как уже говорилось, антигликозепановое средство должно быть первым в серии разрушающих КПП агентов, которые потребуются для освобождения от молекулярных оков белков нашего тела. Это лекарство позволит впервые наблюдать на человеке результаты, годы назад уже полученные при испытании алагебриума на собаках и мартышках. Постаревшие сердца вернут себе молодую податливость и станут легко заполняться живительной кровью. Жесткие артерии размякнут и будут снова свободно пропускать ее приливные волны. Все затвердевшие от возраста ткани сделаются по-юношески гибкими и упругими. Абсурдные и унижительные молекулярные кандалы, сковывающие наше тело, наконец-то развалятся, и мы сможем всю жизнь заниматься самой головоломной гимнастикой, какую только потребует от нас суровый спортзал житейских джунглей.

Отправить зомби на покой



С возрастом в наших тканях накапливается все больше не желающих умирать, но бездействующих клеток. Это часть нашей биохимической программы по профилактике рака: подавления активности потенциально злокачественных клеток еще до того, как они начнут причинять неприятности. К сожалению, они не остаются просто безобидными и незаметными, а умудряются причинять вред окружающим тканям искаженными химическими сигналами. К счастью, воспользовавшись достижениями новейшей “прицельной” противораковой терапии, можно разработать безопасные и эффективные методы избавления от этих стареющих клеток.

☞ ДО СИХ ПОР ОБСУЖДАЛИСЬ главным образом специфические формы возрастного повреждения наших клеток и их компонентов на молекулярном уровне – вместе с возможностями восстановления клеточных и тканевых функций путем устранения или обезвреживания таких дефектов. Однако в некоторых случаях стареющее тело накапливает клетки, которые поражены таким образом, что не просто перестают делать свой вклад в жизнеобеспечение организма, но фактически начинают *отравлять* его, рубя, так сказать, сук, поддерживающий их собственное существование.

В главе 5 я уже рассматривал один такой случай – клетки, захваченные мутантными митохондриями. Когда эти органеллы в результате мутации своей собственной ДНК теряют способность “сжигать” топливо, главная причина неприятностей для организма (по моему мнению) не в дефиците энергии. Нам вредит контрадаптивный способ изменения метаболизма клеток–хозяев, пытающихся выжить в условиях митохондриальной недостаточности. Эта перестройка позволяет им влачить существование, повышая окислительные стресс за своими пределами, а в результате – даже в самых отдаленных от них уголках организма.

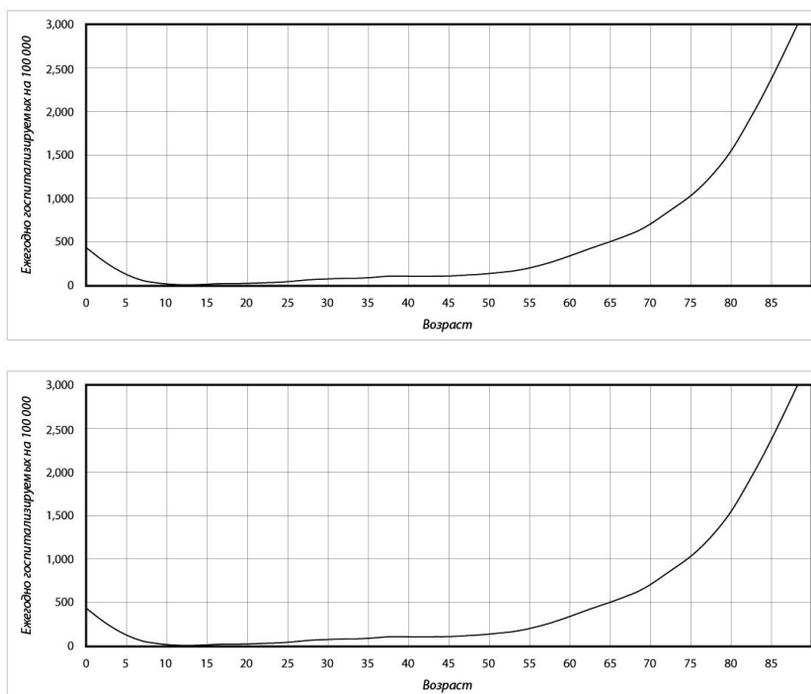
На первый взгляд, оптимальный для него выход – просто убивать такие клетки, избавляясь в результате от их токсичного воздействия. Однако сама природа некоторых из них делает такой выход рискованным. Вероятно, самый наглядный пример – волокна скелетной мускулатуры. Строение мышцы таково, что разрушение даже одной составляющей ее клетки отрицательно сказывается на нашей силе и подвижности. Отмирание этих клеток из-за старения (а не “отключения”) уже является одной из важных причин возрастного дряхления тела. Мы просто не можем позволить себе усугублять проблему, убивая в целях самообороны мышечные волокна.

Следовательно, в данном конкретном случае, как уже говорилось в гл.6, лучше не уничтожать колонизированные мутантными митохондриями клетки, а искать способ сохранения и восстановления их нормальной метаболической активности, несмотря на неустраняемые дефекты.

Однако известно и множество других случаев, когда риск ликвидации токсичной клетки пренебрежимо низок, а польза от этого очевидна. Хотя бы одна из подобных ситуаций известна каждому – рак. Никто не спорит, что уничтожение злокачественных клеток безусловно полезно для организма. Однако в этой главе я не буду обсуждать собственно рак (если не считать применимости для решения *новых* задач некоторых способов противораковой терапии) – с ним связаны такие уникальные проблемы, что они заслуживают отдельного рассмотрения (гл.12). Я сосредоточусь на трех типах клеток, которые, отнюдь не представляя такой опасности, как злокачественные опухоли, в совокупности существенно способствуют нашей возрастной деградации, ведущей к болезням, дряхлению и смерти. На мой взгляд, реанимировать эти клетки нет никакого смысла: лучше просто уничтожать их, как и раковые. Они будут обсуждаться здесь вместе, поскольку представляют для нас примерно одинаковую угрозу, которую можно устранить сходными способами.

☞ Атака клонов

Один из самых губительных возрастных эффектов – ослабление иммунной системы. Инфекции, которые доставляют лишь мелким неудобства



(Рисунок 1.) Возрастная уязвимость для гриппа и пневмонии. Вверху – уровень госпитализации женщин в Коннектикуте в 1993–1997¹. Внизу – смертность (по данным Центров лечения и профилактики болезней США [2]).

молодым людям, могут убить биологически старого человека. Например, грипп ежегодно укладывает в стационары 114 000 американцев, унося вместе со своими осложнениями около 51 000 их жизней. Однако поражает эта напасть в основном тех, кто уже пострадал от возрастных патологий (см. рис.1). Грипп и вызываемая им пневмония почти никогда не убивают взрослых людей младше семидесяти, после чего смертность возрастает экспоненциально. В США более 90% погибших от этих двух болезней – люди старше 65.

Конечно, эту смертность можно *несколько* уменьшить с помощью вакцинации. Однако ненамного: от 30 до 75% стариков не реагируют на прививки от гриппа, тогда как среди молодых взрослых людей эта доля равна всего лишь 10%. Добавьте к этому, что иногда нас вакцинируют не от того штамма вируса, а это ограничивает пользу даже успешной иммунизации. У воз-

растного ослабления иммунной системы несколько причин. Некоторые из них в конечном итоге вытекают из возрастных патологий в разных частях тела (например, общее усиление свободнорадикального стресса, обусловленное мутантными митохондриями). Однако одним из самых глубоких – и неожиданных – факторов, заставляющим стариков поддаваться инфекциям, от которых без труда избавляются молодые люди, является, как ни трудно в это поверить, своего рода *иммунологическое перенасыщение*.

☞ Отчет о боеготовности

У нашей иммунной системы два главных части. Одна из них *врожденная*. Ее задачи настолько общие, что ей не надо “учиться” распознавать специфических противников. Эту часть иммунной системы можно сравнить с солдатами, патрулирующими пограничную зону: они стараются поддерживать порядок, но не знают врага в лицо – просто хватают всех встреченных по пути подозрительных субъектов. С годами эта врожденная система безопасности, по-видимому, почти не меняется, а если с ней что-то и происходит, то, скорее всего, из-за конкретных возрастных патологий (некоторые из них будут рассмотрены ниже) или распространенных в старости факторов (например, витаминно-минеральных недостаточностей), а не в результате собственно *биологического старения*³.

Вторая часть иммунной системы – *адаптивная*. Она напоминает множество отлично обученных спецподразделений, каждое из которых подготовлено к ведению боевых действий против того или иного вполне конкретного противника. Благодаря этой своей части наша иммунная система *учится* распознавать врагов, что объясняет эффективность вакцинаций.

В ней различаются два типа клеток – *B-* и *T-лимфоциты*. Первые защищают нас в основном от таких патогенов, как типа бактерии и простейшие, т.е., от посторонних для организма агентов, на которые можно нацелиться *непосредственно*. B-лимфоциты распознают специфические “чужие” метки (*антигены*) на поверхности пришельцев и синтезируют соответствующее им *антитела*. О действии последних уже говорилось в гл.8, когда обсуждалась антиамилоидная вакцинация. Антитела, связываясь с антигенами подлежащего уничтожению чужака, действуют как маяки, направляющие на него атаку других компонентов иммунной системы, или просто блокируют рецепторы и прочие белки, необходимые для выживания патогена.

В противоположность этому *цитотоксические T-лимфоциты* (известные также как T-киллеры, или *CD8-киллеры* по их характерному рецептору) отвечают за искоренение *внутренних врагов*, т.е. клеток, порожденных самим организмом, но с некоторого момента действующих ему в

ущерб, например раковых или зараженных вирусами. (Существуют и другие типы Т-лимфоцитов, но о них ниже.) Эти лимфоциты тоже нацеливаются на антигены, но только если те сочетаются с определенными белками “родных” клеток-изменниц. Для приобретения специфической цитотоксичности (созревания) им не обязательно контактировать с антигеном, оказавшимся на поверхности непосредственно клетки-хозяина. В случае вирусов, например, такой антиген чаще предъясвляется им другими компонентами иммунной системы, играющими роль разведчиков и добывающими опознавательные знаки врага среди остатков разрушенных им клеток. В любом случае зрелый Т-киллер без участия антител уничтожает клетки своего же организма, ставшие по разным причинам предателями.

Потенциальная проблема связана с необходимостью поддержания тонкого баланса между конкурирующими потребностями в условиях далеко не бесконечных ресурсов. С одной стороны, иммунная система должна уметь распознавать и уничтожать врагов, с которыми никогда раньше не встречалась. Для этого ей необходим запас так называемых *наивных CD8-клеток*, готовых “учиться” реагировать на новые угрозы, созревая в присутствии незнакомых антигенов и лишь после этого бросаясь в атаку. С другой стороны, такая “учеба” требует времени, что дает врагу возможность закрепиться в организме, создавая угрожающую жизни ситуацию. Поэтому у нас всегда есть контингент *CD8-клеток памяти* – ветеранов иммунологических битв, помнящих в лицо уже побежденных врагов и сразу же начинающих их уничтожение.

☞ Сбалансированный бюджет

В идеале нам стоило бы располагать неограниченными резервами Т-лимфоцитов – сколько угодно наивных плюс крупные подразделения клеток памяти для каждого из многочисленных патогенов, с которыми наш организм встречался за долгие годы блужданий по бандитским переулкам жизни. Однако создание и содержание такой огромной армии требует крупных инвестиций, а бюджет иммунной системы (как и любой другой) ограничен. Чтобы “военные расходы” не подрывали общей экономики организма, тот проводит строгую политику согласования своих затрат, ужимая по мере возможности так называемое “иммунологическое пространство” всей популяции Т-лимфоцитов. Иными словами, *совокупное* количество их наивных форм и клеток памяти не превышает определенного предела, хотя *конкретный состав* этой группы непрерывно меняется в зависимости от того, на какие угрозы в каждый данный момент нам приходится реагировать.

Когда эта система работает нормально (что типично для молодого человека), перед нами эталон гибкой, недорогой, высокомобильной, отлично подготовленной армии – розовой мечты подавляющего большинства полководцев и мировых лидеров. При попадании в организм любого патогена происходит стремительное развертывание таких сил быстрого реагирования, которые без особого труда ликвидируют возникающую угрозу. Идет ли речь о клетках памяти, мобилизуемых на борьбу с известным противником, или о наивных лимфоцитах, на ходу обучающихся поражать принципиально нового агрессора, количество необходимых нам в данный момент специализированных Т-киллеров резко возрастает. Это происходит в результате быстрого клеточного деления, называемого *клональной экспансией*, которое увеличивает субпопуляцию лимфоцитов, опознающих определенные антигенные метки. (Термин “клон” в биологии имеет несколько значений; не стоит их путать с популярным, ненаучным смыслом, вкладываемым в данное слово. В следующей главе я рассмотрю этот вопрос подробнее.)

Когда очередной враг разбит, сохранение большого количества специализированных на его уничтожении Т-киллеров превращается в пустую трату ограниченных ресурсов. Железная бюджетная дисциплина нашего организма позволить этого не может. В результате он начинает быструю демобилизацию, приказывая основной массе выполнивших свою миссию ветеранов приступить к тщательной организованной программе самоуничтожения (*апоптоза*), ведущей к восстановлению менее специализированной обороноспособности. При этом, как уже говорилось, небольшая часть только что воевавших бойцов сохраняется в виде клеток памяти, продолжающих следить, не появится ли на горизонте хорошо знакомый им противник. Их немного, существенных расходов на поддержание такого ограниченного патрульного контингента не требуется, и “бюджет” иммунной системы в результате не страдает. По крайней мере, так запланировано природой.

☞ Старые солдаты не умирают...

К сожалению, такой идеал военной и фискальной дисциплины сохраняется, только когда организм полностью освобождается от инфекции. Если же организм воюет с врагом, пока тот не затаится, но не уничтожает его полностью, система начинает разлагиваться. Одна из групп таких не до конца истребляемых врагов – вирусы герпеса. Они вызывают не только патологию, известную как собственно герпес (*herpes simplex*), вызывающий язвочки на губах и гениталиях, но и инфекционный мононуклеоз (вирус *Эпштейна – Барр*), ветрянку и опоясывающий лишай (вирус *varicella zoster*) и *цитомегаловирусную* инфекцию, о которой кроме специалистов мало кто слышал. Все эти вирусы на-

шим организмом успешно глушатся и в конечном итоге, инактивируясь, прекращают вызывать симптомы болезни. Однако они не уничтожаются полностью: небольшое количество их копий затаивается в потаенных уголках тела и “дремлет” там незаметно для иммунной системы, дожидаясь момента, когда она ослабнет настолько, что можно будет снова атаковать здоровые ткани. Фактически само слово “герпес” происходит от греческого “герпейн”, т.е. “ползать”: речь идет о способности патогена “по-пластунски” ускользать от лимфоцитов, сохраняя способность к реактивации в благоприятных условиях.

Возможно, вы впервые слышите о цитомегаловирусе (ЦМВ), хотя, не исключено, сами являетесь его носителем – как и 85% людей, доживших до пятого десятка. Дело в том, что ЦМВ редко вызывает даже недолгое заметное недомогание. Примерно в половине случаев первичной инфекции или реактивации этого патогена симптомов нет вообще, а в остальных возникают лишь трудные для диагностики неспецифические жалобы типа общего недомогания, повышенной температуры, потливости.

Однако новые исследования показывают, что ЦМВ (и, вероятно, другие вирусы) могут наносить и серьезный долговременный вред людям, не обращающим особого внимания на слабые и скоротечные признаки его исходной активности и реактивации. Поскольку организм от таких патогенов никогда до конца не избавляется, нацеленные на них Т-клетки памяти мобилизуются слишком часто. Постоянные тревоги постепенно ослабляют способность таких лимфоцитов реагировать на апоптозные приказы, т.е. “кончать с собой” после окончания вражеской атаки. По поводу причин этого существует несколько теорий, но, на мой взгляд, тут перед нами одно из проявлений сложной адаптации организма, призванной защитить его от бесконтрольного (злокачественного) клеточного размножения⁴. В любом случае невозможность демобилизовать чересчур живучих ветеранов постепенно снижает способность иммунной системы противостоять другим, как известным, так и новым инфекциям. Железная ограниченность “иммунологического пространства” (“военного бюджета”) нашего организма ведет к логичному результату: если сохраняется чересчур много ненужных Т-лимфоцитов, выработанных против ЦМВ и других “ползучих” инфекций, приходится экономить на *остальных* иммунных солдатах. Соответственно, число наивных Т-клеток, готовых учиться борьбе с новыми врагами, и лимфоцитов, помнящих другие известные патогены, падает до рискованно низкого уровня⁵.

☞... Они просто уходят в тень

Итак, уже сам отказ борцов с ЦМВ и аналогичными вирусами вовремя “кончать самоубийством” вредит нашему организму, не давая ему вербовать до-

статочное количество новых рекрутов. Однако фактически ситуация еще печальнее. Прошлые клональные экспансии не только заполняют место, необходимое для других бойцов: безработные Т-клетки памяти – подобно старым, израненным ветеранам – становятся слишком слабыми (иммунологи говорят “анергическими”, т.е. “лишенными энергии”) для выполнения *собственных* обязанностей⁶.

Одним из важнейших процессов, ведущих к такой их анергичности, по-видимому, является утрата одного из ключевых поверхностных клеточных рецепторов, CD28, что наблюдалось и у человека⁷, и у других животных⁸. Т-лимфоциты оповещаются о присутствии врага *антиген–презентирующими клетками* (АПК), своего рода разведчиками иммунной системы, которые идентифицируют антигены противника, непосредственно встречаясь с ним или поглощая материал, остающийся на местах сражений (т.е. гибели зараженных вирусами клеток). Если Т-лимфоциты утрачивают CD28, АПК перестают распознавать и предупреждать их о нависшей над организмом угрозе: разведдонесения никем не читаются. Особенно быстро теряют свои CD28–рецепторы ЦМВ–специфичные Т-киллеры.

Еще одна порождаемая анергичностью Т-лимфоцитов проблема заключается в том, что, занимая чужое место и снижая объем прочих Т-клеточных субпопуляций, они лишаются способности к размножению. В норме Т-клетки памяти экспрессируют рецептор KLRG1, который удерживает их от пролиферации после подавления инфекции. При этом наличие KLRG1 сохраняет способность этих лимфоцитов к размножению в присутствии соответствующего противника. В принципе, на поверхности анергических клеток KLRG1 сохраняется⁹, но появляется и дополнительная, отсутствующая в норме метка – CD57¹⁰. А наличие сразу двух таких структур подавляет способность к размножению. В результате резерв этих ветеранов, даже оповещенный о появлении известного им противника, уже не может превратиться в полноценную армию.

Этому клеточному “бесплодию” способствует любопытный факт: у анергических Т-клеток памяти необычно короткие теломеры – бессмысленные (не кодирующие белки) участки ДНК на концах наших хромосом. Причина в том, что у них, в отличие от большинства иммунных клеток, утрачивается активность необходимого для восстановления теломер фермента *теломеразы*. Не экспрессируемый и у многих других клеток организма, он необходим функциональным CD8–лимфоцитам, поскольку от них требуется частое и быстрое размножение в ответ на инфекции. Очевидно, инактивация их теломеразы ослабляет иммунную систему в целом. Дополнительная информация об этом ферменте приводится в приводимой ниже врезке, а также в гл.12.

ТЕЛОМЕРЫ И ТЕЛОМЕРАЗА



Каждое деление клетки требует копирования ее ДНК. За это отвечает фермент *ДНК-полимераза*. Он несколько напоминает поезд: движется по рельсам в виде двойной спирали ДНК и “буква за буквой” воспроизводит ее нуклеотидную последовательность, изготавливая идентичную молекулу, которая остается рядом с оригиналом.

Однако у ДНК-полимеразы есть существенный недостаток. По причинам, углубляться в которые нет необходимости, *вся* молекула ДНК этим ферментом никогда не копируется. Иными словами, при каждом клеточном делении небольшой ее участок теряется, и скопированная цепочка оказывается короче исходной. Конец хромосомы постепенно “обгрызается”.

Вторая возникающая с хромосомами проблема – их тенденция часто рваться из-за действия радиации и других неблагоприятных факторов. Клетке приходится сшивать возникающие обрывки. При этом, разумеется, она ни в коем случае не должна путать их с концами интактных хромосом, и, следовательно, ей надо каким-то образом различать эти два типа участков ДНК.

Частично такая проблема решается природой с помощью теломер. Эти концевые участки хромосом не содержат генетической информации, представляя собой монотонные повторы короткой последовательности нуклеотидов. Их укорочение при многократных копированиях ДНК и клеточных деления никакого вреда организму не приносит – пока теломеры остаются достаточно длинными. Однако ее полного исчезновения бояться не стоит, поскольку существует фермент теломераза, который удлинняет эту бессмысленную концевую последовательность ДНК. Точнее говоря, он решает сразу две проблемы. С одной стороны, экспрессирующие теломеразу клетки восстанавливают свои укорачивающиеся при каждом делении теломеры и могут делиться неограниченно долго. С другой стороны, сохранение теломер не позволяет механизму, устраняющему разрывы ДНК, сшивать разные хромосомы: бессмысленные концевые повторы распознаются соответствующими ферментами и оставляются в покое.

Люди и некоторые другие виды остроумно используют эту теломерно-теломеразную систему для защиты от рака. Злокачественные клетки убивают организм только после многократного деления. Без теломеразы это невозможно: если теломеры не будут восстанавливаться, они постепенно исчезнут, концы хромосом, перестав отличаться от внутривнутрихромосомных разрывов, в конце концов, соединятся, а в результате раковые клетки как

минимум не смогут больше делиться. Поэтому кодирующие теломеразу гены в них по мере возможности отключаются. Для восстановления активности этого фермента и, соответственно, способности раковых клеток к делению потребовалось бы много очень “удачных” мутаций. Хотя этот вопрос изучен меньше, у пожилых носителей ЦМВ наблюдается также избыток дефектных *CD4-лимфоцитов*, называемых Т-хелперами, которые помогают другим компонентам иммунной системы организовать контрнаступление на проникшие в организм патогены. Иными словами, у этих внешне здоровых людей происходит такая же клональная экспансия нацеленных на ЦМВ, но лишенных рецептора CD28 CD4-клеток, как и в их CD8-популяции. Результат – аналогичное перенасыщение специализированными лимфоцитами, не реагирующими на активацию антиген-презентирующими клетками¹¹



Не активируясь ими, эти дефектные Т-хелперы не выполняют своей функции, т.е. не обеспечивают мобилизацию на борьбу с врагом CD8-лимфоцитов и других иммунных клеток. Такая ситуация – вместе с упоминавшейся выше неспособностью Т-киллеров эффективно атаковать свои мишени – дает ЦМВ беспрепятственно размножаться. Это ведет к дополнительным клональным экспансиям и дальнейшему усугублению иммунной дисфункции.

Клонально размножившиеся ЦМВ-специфичные CD8-клетки анергичны (неэффективны) и с других точек зрения. При первом заражении мышинным вариантом этого вируса молодые мыши вырабатывают очень активные Т-киллеры, распознающие не менее 24 его антигенов. Однако, когда инфекция становится хронической, их нацеленные на ЦМВ спецподразделения сокращаются до клонов, реагирующих в среднем лишь на пять таких белков¹². Кроме того, у пожилых людей с ЦМВ анергические CD8-клетки реагируют на вирус слабее, чем у молодых его носителей, вырабатывая значительно меньше гамма-интерферона, одного из важнейших химических усилителей иммунологического ответа^{13,14}.

❧ Плохие полководцы хороших армий

Вероятно, неспособность анергических Т-лимфоцитов бороться с ЦМВ-инфекцией ведет ко многим другим типичным для пожилых людей иммунологическим дисфункциям, которые нельзя объяснить никаким *непосредственным* эффектом старения этих клеток. Некоторые из таких эффектов можно было бы ожидать в связи с изменением выработки ими цитокинов, влияющих на активность прочих бойцов врожденной и адаптивной частей им-

мунной системы, однако другие вызывают гораздо более стойкие последствия, чем просто проблемы с химической сигнализацией.

Например, согласно широко распространенному сейчас мнению, старение Т-клеток объясняет возрастное снижение эффективности В-лимфоцитов, синтезирующих *антитела* к чужим антигенам и метящих таким образом патогены как мишени для разрушения другими клетками. Для созревания и выработки антител В-клеткам необходимы сигналы от Т-хелперов, поэтому доказательство того, что старость Т-клеток вызывает снижение эффективности В-лимфоцитарной системы, независимое от ее собственного старения, было лишь вопросом времени^{15,16,17}. К сожалению, никто пока (насколько я знаю) не выяснял, обусловлен ли такой эффект индуцированной ЦМВ клональной экспансией Т-лимфоцитов, играющей важнейшую роль в развитии прочих аспектов старения всей их популяции. В результате мы не знаем, насколько сильно влияет на В-клетки такой специфический феномен, как анергизация Т-клеток.

Даже если отвлечься от механистических объяснений и молекулярно-биологических механизмов, реальное влияние ползучего подтачивания всей иммунной системы анергическими CD8-клонами на человеческое здоровье становится очевидным при изучении конкретных результатов этого процесса. Опыты на животных показывают, что возрастная клональная экспансия отдельных CD8-субпопуляций снижает разнообразие присутствующих в организме Т-клеток, а в итоге и их способность обеспечивать эффективную иммунную защиту¹⁸. Примеры аналогичных этому эффектов у нашего с вами вида – ухудшение CD8-ответа на прививки от гриппа¹⁹ и происходящее несколько позже ослабление Т-клеточного иммунитета против вируса Эпштейна–Барр²⁰ у людей с клональной экспансией ЦМВ-специфичных клеток памяти.

☞ Подсчет потерь

Даже если бы влияние на организм клонов анергических Т-лимфоцитов ограничивалось повышением заболеваемости и смертности от инфекционных болезней, у нас было достаточно причин желать избавления от этих клеток. Однако есть достаточно веская причина полагать, что они способствуют также возрастному ослаблению организма, которые не находят очевидного иммунологического объяснения.

Прежде всего, у пожилых людей, пострадавших от гриппа или спровоцированной им пневмонии, наблюдаются удивительно долгие их последствия, существенно ускоряющие прочие патологические процессы и движение человека в сторону старческой беспомощности, а в конечном ито-

ге и на кладбище²¹. По многим данным, перенесенный в солидном возрасте грипп повышает риск смерти от неожиданных причин типа инфаркта миокарда и инсульта, а также от как будто не связанных с этой инфекцией респираторных заболеваний; кроме того, обостряется течение застойной сердечной недостаточности.

Далее, такое долгое выздоровление биологически старых людей от гриппа, накладываясь на их общую слабость, обусловленную другими аспектами старения, вероятно, способствует серьезной, зачастую пожизненной функциональной деградации и инвалидизации. Грипп нередко укладывает пожилого человека в больницу, порой на целых три недели, а исследования показывают, что *каждый день* постельного режима означает для него потерю до 5% мышечной силы и 1% аэробической выносливости. Однако, видя, как женщина в возрасте с трудом открывает дверь или, поскользнувшись на льду, ломает себе шейку бедра, никто не думает о перенесенной ею простуде или иммунологическом старении.

Можно вспомнить и о других старческих недугах, в развитии которых, по-видимому, существенную роль играют клоны анергических Т-клеток, но свидетельства этого не настолько очевидны. Одна из таких патологий – остеопороз. У пожилых женщин с остеопорозными переломами обнаружены более высокие уровни анергических CD8-клеток, чем у их сверстниц со здоровыми костями. При этом некоторые молекулярные механизмы наводят на мысль, что обилие таких дефектных лимфоцитов являются именно причиной, а не следствием снижения плотности и прочности костной ткани²².

Кроме того, несмотря на сравнительную спекулятивность данного предположения, ползучая “клонализация” Т-клеточной популяции могла бы влиять даже на ход атеросклероза. Она ведет к хроническому воспалительному процессу, который, как известно, портит артерии, способствуя возникновению инфаркта миокарда. В пользу этой гипотезы говорит более высокий, чем у здоровых людей, уровень анергических CD8-клеток у пациентов с ишемической болезнью сердца – как при ЦМВ-инфекции, так и в ее отсутствие²³. Таким образом, ослабление иммунной системы является, по-видимому, как *облегчающим* фактором, так и *результатом* инфекционного поражения артерий, которое в свою очередь благоприятствует развитию атеросклероза со всеми его потенциальными последствиями.

Как уже говорилось, точные доказательства связи анергических клонов Т-клеток с этими отдаленными эффектами пока отсутствуют. Однако пара интересных исследований в рамках осуществляемого сейчас Европейским союзом проекта Т-КИС (Т-клеточный иммунитет и старение), уже приблизил нас к более четкой оценке летальной роли этой причины возрастного иммунодефицита – что бы в конечном итоге ни было написано в свидетельстве о смерти.

Эти исследования касались двух когорт “самых старых” жителей Швеции, т.е. тех, кому за 80²⁴ и за 90^{25,26}, причем охватывали только людей, практически здоровых по сравнению с большинством своих хронологических сверстников: с отсутствием в анамнезе серьезных заболеваний сердца, головного мозга, печени и почек, без рака, диабета, признаков активных инфекций или химических маркеров воспаления и не принимающих никаких лекарств, заметно действующих на иммунную систему, включая недавние вакцинации. Европейские ученые обнаружили даже среди этих относительно здоровых стариков несколько человек с комплексом скрытых иммунологических дефектов (“фенотипом иммунного риска”), например различными формами возрастного поражения, которые можно объяснить ЦМВ-инфекцией, а значит, в не меньшей степени и клональной экспансией анергических ЦМВ-специфичных CD8-клеток.

Тот факт, что некоторые представители изученной здоровой, несмотря на большую хронологическую старость (по современным стандартам) выборки были свободны от клонов анергических Т-клеток, позволил проследить их “чистый” эффект в подгруппе, где присутствие таких лимфоцитов могло действительно *способствовать* развивающимся в следующие два года болезням, а не являться их *результатом*.

Никого не удивил результат наблюдений: фенотип иммунного риска, как и предполагалось, повышал вероятность скорой кончины, однако *масштабы* такого влияния шокировали. Оно было особенно выражено в группе людей старше 90, где этот дефицит позволял объяснить 57% смертности. Напоминаем: речь идет о возрастном ослаблении иммунной системы, вызываемом вирусом, активность которого многими из нас *вообще* не замечается, а в прочих случаях обычно ощущается лишь как легкое недомогание с повышением температуры.

Важно правильно понять все значение этого открытия. Фенотип иммунного риска способствовал *всем причинам* смертности, а не только повышал риск умереть от инфекционной болезни. Хотя внешние патогены, действительно, убивают многих биологически старых людей, микробные атаки объясняют полученные результаты далеко не полностью.

Война против клонов

По мере накопления данных, говорящих о роли клонов ЦМВ-специфичных CD8-клеток в возрастном ослаблении иммунитета, стала приоткрываться и светлая сторона этого феномена. Если иммунологическое старение в такой значительной степени объясняется экспансией Т-лимфоцитов, значит, ее предупреждение, а тем более обращение вспять должно (соответственно) защищать или восстанавливать молодое состояние иммунной системы независимо от нашего хронологического возраста. А значит, вакци-

ны будут действовать на стариков так же эффективно, как и на юношей. И пожилые люди сбросят неподъемный груз инфекций, от которых молодежь избавляется, всего лишь пару ней не походив в школу или на работу.

Один из вариантов профилактики, поддерживаемый многими иммунологами, – вакцинация против ЦМВ. Еще до того, как выяснилась центральная роль ЦМВ–инфекции в возрастном ослаблении иммунной системы, опубликованный в 1999 доклад Медицинского института Национальной академии наук США, отмечая неудовлетворительные темпы разработки новых вакцин, поставил на первое место в списке неотложных задач создание эффективной анти–ЦМВ–вакцины. Подчеркнем, что авторы доклада исходили только из накопленной к *тому времени* информации о человеческих и финансовых потерях, вызываемых этим вирусом. Позднее Национальное агентство США по программе вакцинации, придя к такому же выводу, запросило у правительства дополнительные средства на исследования в области вакцины против ЦМВ. Сейчас, когда получены четкие доказательства важной роли ЦМВ–инфекции в старении иммунной системы, многие специалисты высказываются за дальнейшее увеличение этих ассигнований.

Хотя польза такого подхода и выглядит бесспорной, стоит напомнить, что речь идет главным образом о *профилактической* стратегии. Она снизит риск заражения ЦМВ и, возможно, усилит иммунный ответ на него уже инфицированных людей, но не избавит их от вируса полностью и, естественно, не устранил накопленного за долгие годы его присутствия иммунологического ущерба. Следовательно, такая вакцина спасет относительно небольшой процент младенцев от тяжелых врожденных дефектов и предотвратит безвременную кончину многих больных СПИДом и пациентов с пересаженными органами, однако почти не улучшит состояния сотен миллионов людей, *уже* страдающих от хронических инфекций и повышенной чувствительностью к патогенам из–за ослабления иммунной системы клональной экспансией анергических CD8–клеток.

Другие предложения, хотя бы потенциально устраняющие некоторые аспекты иммунологического старения, связаны с попыткой лечения дефектов уже существующих анергических Т–клеток методами генной терапии. Идея в том, что снабжение этих лимфоцитов генами, кодирующими их утраченные или недостаточно активные белки (например, CD28–рецептор или теломеразу), позволило бы восстановить эффективность выполнения ими своих специфических задач и предупредить угнетение прочих Т–клеточных популяций. Хотя подобный подход и выглядит логичным, польза его представляется слишком ограниченной, а путь клинической разработки – чересчур туманным. Что же касается конкретно теломеразы, последствия ее активизации в *любой* клетке вызывают еще много вопросов и требуют более

серьезного рассмотрения. Эти сомнения связаны с еще одной возрастной патологией – раком. Я подробно остановлюсь на нем в гл.12, а сейчас ограничусь лишь кратким пояснением. Поскольку необходима хотя бы крошечная теломера для продолжения делений, каждое из которых ее укорачивает, клеткам с потенциально канцерогенными мутациями для превращения в злокачественную опухоль требуется механизм восстановления теломеры. Почти все раковые клетки запускают его, срывая собственные тормоза с теломеразных генов. Стоит ли снабжать этими генами дефектные клетки, тем более учитывая риск случайного “заражения” геннотерапевтическими векторами “посторонних” клеток, в которых *ни в коем случае* нельзя включать теломеразу?

Более правомерным решением выглядит не реабилитация бездействующих лимфоцитов, а их уничтожение. Пожилым носителям ЦМВ, по-видимому, не хватает функциональных Т-киллеров, нацеленных на зараженные этим вирусом клетки. Причина такого дефицита – перенасыщение организма огромными субпопуляциями анергических лимфоцитов. Даже если нам удастся вернуть всем им полную иммунологическую компетентность, они будут создавать проблему, все еще ограничивая ресурсы, необходимые для сохранения наивных лимфоцитов и клеток памяти, необходимых для защиты от других патогенов.

Теоретически все выглядит просто. Избавившись от анергических Т-клонов, мы освободим иммунологическое пространство для здоровых клеток других типов и специализаций, а том числе и для активных нацеленных на ЦМВ лимфоцитов.

Остается решить вопрос: как очистить организм от расплодившихся бездельников, оставив в живых всех (или хотя бы почти всех) их заложников, которых мы хотим избавить от угнетателей–тунеядцев. Онкологи уже располагают достаточно эффективными и не слишком вредными для организма в целом лекарственными и радиационными методами уничтожения сравнительно крупных *опухолей* в конкретных участках тела, однако этот подход неприменим в случае анергических Т-клеток, не сконцентрированных в отдельных местах, а распределенных по различным тканям и органам. По той же причине бесполезно говорить о хирургическом вмешательстве. Опухоль можно вырезать (или как минимум урезать), добившись с определенным риском того или иного клинического улучшения. Однако в ближайшем будущем никаких способов индивидуального хирургического удаления анергических Т-клеток не предвидится.

Тем не менее, несмотря на неприменимость традиционных противораковых методов в качестве образца для разработки необходимой нам биотехнологии, последние впечатляющие успехи онкологов наводят на мысль

о принципиальной возможности терапии, обеспечивающей избирательное избавление организма от не желающих умирать клеток.

☞ Аромат Гливека

Даже если никто из ваших знакомых не болен раком, вы вполне могли слышать о *гливеке* (*STI-571*, или *иматинибе*), *ирессе* (*ZD1839*, или *гефитинибе*), *герцептине* (*трастузумабе*) и других менее известных или еще прокладывающих путь к больным лекарствам той же группы. Речь идет о так называемой “прицельной противораковой терапии”, которую с полным основанием считают революционным новшеством. Даже формулировки типа “чудесных исцелений”, абсурдно часто используемые в популярной медицинской литературе, не кажутся преувеличением тем, кто лично наблюдал исчезновение злокачественных опухолей в собственном теле или в организме своих близких, не сталкиваясь при этом с тяжелейшими побочными эффектами облучения и химиотерапии. Конечно, эти лекарства тоже дают побочные эффекты – от них не свободно ни одно “нарушающее метаболизм” средство. Например, герцептин нацелен на ростовой рецептор HER-2: связывая его, он препятствует неконтролируемому размножению раковых клеток, которое стимулируется избытком копий этого рецептора на их поверхности. Однако нормальные клетки размножаются “как надо” тоже благодаря HER-2-стимуляции, только сравнительно слабой. А в результате применение герцептина может вызывать смертельно опасную застойную сердечную недостаточность – побочный эффект, который недавние исследования обнаружили также у некоторых пациентов, пользующихся гливеком, который считался в высшей степени безвредным медикаментом – именно потому, что нацелен только на *аномальную* форму одного из трансдукторов ростовых сигналов²⁷.

Аналогичным образом, влияя на устойчивость анергических Т-лимфоцитов к апоптозу, можно было бы стимулировать их “самоубийство”, однако остается вопрос: как не погубить попутно нормальные клетки?

Я уверен, что мы сумеем воспользоваться уже применяемой прицельной противораковой терапией (и, очевидно, будущими ее методами, еще находящимися на разных стадиях клинической разработки), создав на этой основе “умные бомбы”, разрушающие анергические Т-клетки (и другие типы внутренних врагов, которые мы обсудим позже) с минимальными потерями для здоровых компонентов организма²⁸. Можно, например, было бы соединять тщательно подобранные токсины с молекулами, которые избирательно связывались бы с характерными поверхностными белками анергических клонов, в результате непосредственно убивая таких паразитов, а не просто вызывая в них метаболические нарушения.

☞ Свет убивает вампиров

Один из противораковых методов, который можно было адаптировать для уничтожения наших анергетических Т-клеток, – *фотодинамическая терапия* (ФДТ). Больной получает лекарство, которое при освещении лазером либо сильно разогревается, либо выделяет массу свободных радикалов. Уже известны вещества, обладающие такими свойствами и избирательно поглощаемые раковыми клетками, в результате фотосенсибилизируя их, но, при этом, практически не изменяя свойств нормальных тканей. Эти средства не дают эффекта, пока на них не действует определенное низкоэнергетическое лазерное облучение, которое со своей стороны никак не сказывается на людях, не получавших таких медикаментов: лучи без всякого вреда проходят сквозь их тело. Однако, когда они проникают в клетки, накопившие фотодинамическое лекарство, его свойства приводят к их резкому разогреванию или насыщению свободными радикалами. В результате эти раковые клетки гибнут, а все остальные (не считая находящиеся в непосредственной близости) никак не страдают.

Первое ФДТ-средство, *Фотофрин*, было допущено в развитых странах для лечения далеко зашедшего рака легких, пищеварительного тракта и мочевыводящих путей еще в начале 1990-х. Сейчас используются или находятся в завершающей стадии разработки более совершенные варианты такой терапии. Самое перспективное из ее средств, *Pc-4*, избирательно накапливается в определенных типах раковых клеток, поскольку хорошо растворяется в жирах, которыми особенно богаты эти клетки. Проникнув в них, *Pc-4* благодаря особенностям своей структуры встраивается в митохондрии, подробно рассмотренные мною в главах 5 и 6. Последующее лазерное облучение запускает свободнорадикальную бомбежку, которая либо индуцирует апоптоз, либо – в худшем случае – убивает раковые клетки “грязным способом”, сшивая их белки, окисляя липидные мембраны, разрушая ДНК мутациями.

☞ Молекулярный универсальный нож

Сейчас специалисты, работающие на переднем крае медицины, связывают большие надежды с развитием *нанотехнологии* – молекулярной инженерии, которая позволила бы избирательно уничтожать раковые клетки и могла бы привести к разработке прицельной терапии для борьбы с другими вредными клетками, в том числе с анергетическими Т-клонами. Один из подходов в этой области использует *дендримеры* – древовидные полимеры со сложной ветвящейся структурой, образующей крошечную сферическую

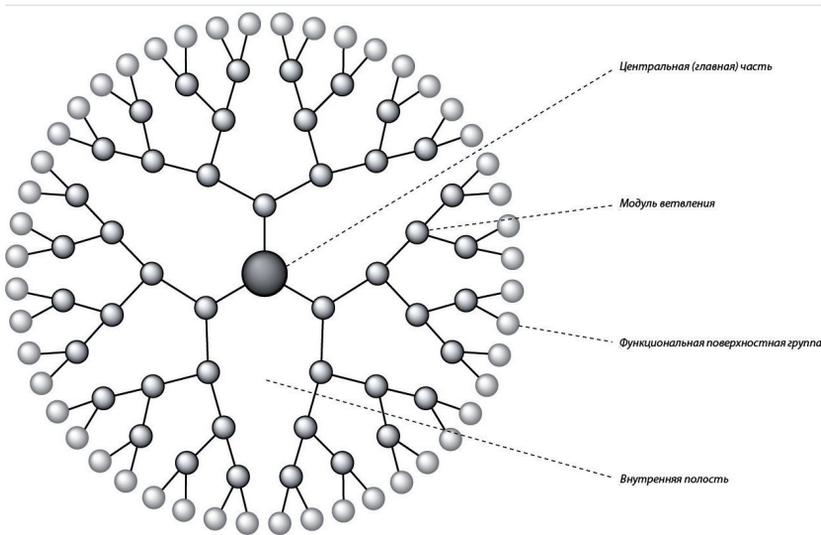


Рисунок 2 “Незагруженный” дендример.

частицу (см. **Рисунок 2**). Ветви дендримеров сконструированы таким образом, что могут присоединять разнообразнейшие молекулы. В результате они аналогичны универсальному складному ножу: множество инструментов в одной компактной упаковке. Дендример может нести одновременно молекулу, нацеливающую его на определенный тип клеток, один или несколько токсинов для уничтожения этих мишеней плюс (если надо) метку, позволяющую ученым или врачам следить за миграцией по организму всего этого набора.

Один из испытываемых сейчас дендримеров загружен фолиевой кислотой (витамином В9), противораковым агентом *метотрексатом* и флуоресцентным красителем *флуоресцеином*. Витамин нужен для наведения этой бомбы на раковые клетки. Многие из них жадно поглощают фолат, поскольку он нужен для синтеза ДНК – процесса, особенно интенсивно идущего при злокачественном росте, подразумевающим частые клеточные деления с предшествующим копированием генетического материала. Для удовлетворения своих потребностей в этом витамине многие раковые клетки “обучаются” выращивать на своей поверхности целые леса из связывающих его рецепторов.

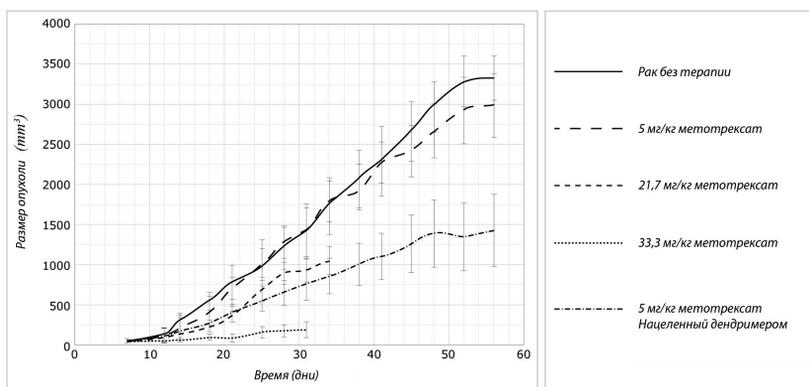


Рисунок 3. Действие метотрексата на раковый рост у мышей²⁹.

Описанный дендример испытывался на мышах, которым привили несоглоточный рак человека. Эти опухоли быстро росли, примерно через 50 суток достигая плато своего увеличения. Когда одной группе таких животных вводили низкие дозы метотрексата, терапевтического эффекта практически не наблюдалось (см. рис.3). Доза, в четыре с лишним раза превышающая первую, существенно замедлила развитие опухолей, однако не принесла особой пользы животным: половина из них в течение 39 дней умерла либо от самого рака, либо от побочных эффектов лечения. Увеличение дозы еще на 50% почти остановило злокачественный рост, но опять же тяжело отразилось на пациентах: мыши быстро потеряли треть массы тела, и половина их за месяц эксперимента погибла.

Совсем иная картина наблюдалась при нацеливании того же самого медикамента с помощью дендримера. Минимальная из испытанных в предыдущем опыте доз метотрексата замедляла в данном случае рост опухоли так же, как и средняя, демонстрируя при этом намного более низкую токсичность³⁰.

В следующем исследовании та же группа сравнивала эффекты минимальной дозы чистого метотрексата и той же дозы, нацеливаемой дендримером, в течение более длительного периода – 99 суток. Не получавшие лечения мыши начали погибать примерно через 50 суток. Чистый метотрексат улучшил выживаемость незначительно. Зато лекарство, нацеленное дендримером, позволило дожить до конца эксперимента 38% животных. Что особенно впечатляло: одно из них за 39 суток полностью вылечилось от рака. Опять же, дендримерное нацеливание метотрексата делало его нетоксичным.

☞ Замена пилы зубочисткой

Ценность дендримеров, как и универсального ножа, в их легкой адаптации к разнообразным задачам. В экспериментах исследователи присоединяют к ним всевозможные нацеливающие молекулы и противораковые агенты. Один из наиболее остроумных вариантов такого подхода – “дендримеризация” *борной нейтрон-захватной терапии* (БНЗТ). Принцип такого лечения был впервые предложен более полувека назад, но применить его на практике до сих пор не удавалось.

БНЗТ несколько напоминает фотодинамическую терапию. Сначала пациенту вводят изотоп бора. Когда раковые клетки накапливают достаточные его количества, человека облучают низкоэнергетическим потоком нейтронов. И применяемый бор, и нейтроны сами по себе для нас практически безвредны. Однако когда ядра изотопа сталкиваются с потоком этих частиц, они поглощают их, становясь крайне нестабильными (радиоактивными), и начинают испускать жесткое *альфа-излучение*. Оно губит содержащие бор клетки и их ближайших соседей, но быстро теряет энергию и становится безопасным для остального организма. Результат – высокоизбирательное воздействие с минимальным побочным эффектом.

Естественно, самым сложный момент БНЗТ – введение бора исключительно в раковые клетки, чтобы после приема его изотопа нейтронное облучение не вредило здоровым тканям. С 1951 ученые пытались использовать такой метод против редкой, крайней агрессивной и плохо поддающейся лечению формы рака головного мозга, так называемой *мультиформной глиобластомы*. До сих пор достигнутые успехи были невелики и не позволяли превратить БНЗТ в стандартный метод лечения этой болезни.

Однако недавно в опытах на животных с мультиформной глиобластомой дендримерное нацеливание бора позволило получить весьма многообещающие результаты. В головной мозг крыс имплантировали человеческие глиобластомные клетки с третьей мутантной версией *рецептора эпидермального фактора роста* (РЭФР), известной как РЭФРvIII, которая встречается в большинстве случаев такого рака. Затем дендримеры загружали бором, прикрепляли к ним нацеливающие агенты – моноклональные тела к РЭФРvIII – и натравливали эти агрегаты на опухоли, т.е. просто вводили больным животным. Для более четкой демонстрации преимуществ нового метода его результаты сравнивали с состоянием целых трех контрольных групп: одна из них не получала никакого лечения, во второй крысам давали *n-борфенилаланин* (БФА), давший наилучшие результаты в прежних версиях БНЗТ, а в третьей – загруженные бором дендримеры в сочетании (но без химической связи) с БФА. В течение суток около 60% введенной дозы

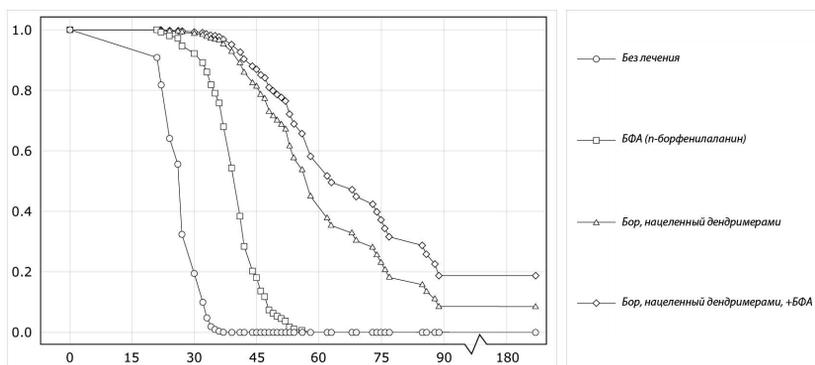


Рис.4. Прицельный дендримерный метод существенно улучшает эффективность БНЗТ³¹.

дендримеров, несущих БФА, связалось с мутантными рецепторами раковых клеток. Это обеспечило примерно *втрое* более высокую противоглиомную концентрацию активного вещества, чем при использовании одного БФА. Захват обоих лекарств нормальными тканями был пренебрежимо слабым. Вдохновленные таким удачным нацеливанием, исследователи стали ждать результатов собственно лечения.

Эти результаты были однозначными (см. рис.4). Не получавшие никакого лечения животные жили в среднем 26 дней. Использование БФА продлеvalo этот срок до 40 суток: существенное улучшение, но все же грустный прогноз. Крысы, получавшие бор, нацеленный дендримерами, жили в среднем 70 дней, причем некоторые из них не умирали полгода и считались “выздоровевшими” (по аналогии с лечением, обеспечивающим пятилетнее выживание раковых людей, поскольку продолжительность жизни здоровых крыс около 30 месяцев). Если же животным вводили нагруженные бором дендримеры вместе с БФА, средняя продолжительность жизни достигла целых 85,5 дней. Это в три с лишним раза превысило показатель, наблюдавшийся без всякого лечения, и более чем вдвое – результат применения лучшего на сегодняшний день экспериментального варианта БНЗТ. Кроме того, 20% крыс, получавших БФА вместе с дендримерами, “выздоровели” в соответствии с указанным выше критерием.

На экспериментальных моделях были успешно испытаны дендримеры с различными нацеливающими и противораковыми агентами. Это первое поколение нанотехнологических лекарств четко продемонстрировало: у нас есть высокоэффективный и гибкий способ точечной бомбардировки

злокачественных клеток с известными поверхностными рецепторами, который в принципе применим и для уничтожения анергических Т-лимфоцитов.

☞ Доведение до самоубийства

В наши дни генная терапия широко применяется на подопытных мышах: с ее помощью тестируют аналогичные способы лечения людей, исследуют эффекты включения и выключения отдельных генов, моделируют человеческие болезни, модифицируя мышинные клетки для придания им большего сходства с нашими. Практическое использование генной терапии в обычных больницах, судя по результатам экспериментов, – всего лишь вопрос времени. Ее необходимость для лечения врожденных болезней и потенциальная польза при широком спектре других медицинских проблем, включая СПИД, ревматоидный артрит, травмы и реконструкция зубной ткани (список можно продолжить), – достаточные стимулы, чтобы продолжать фундаментальные и клинические исследования, которые довели бы до ума соответствующие методики.³²

Один из вариантов такой генной терапии – встраивание в наши Т-клетки нового суицидального (апоптотозного) механизма, включающегося с приобретением ими анергичности. Ученые уже научились вводить мышам (и другим лабораторным животным) гены, активируемые только в присутствии определенного фактора – антибиотика, ультрафиолета, сахара или даже повышенного уровня кальция. Фактически это позволяет нам произвольно включать и выключать специфические клеточные функции.

Введение в клетку экспрессируемых по желанию исследователей генов до сих пор было лишь мощным инструментом изучения их эффектов. Однако сейчас всерьез рассматривается применение этого подхода в медицинских целях. Если эти гены будут активироваться не *внешними* факторами, а определенным белком, *внутренний синтез* которого характерен для нежелательных нам клеток, фактически мы получим новый способ их избирательного уничтожения.

Как и в случае других, обсуждавшихся выше прицельных методик, первыми разработкой такого подхода занялись онкологи. Уже говорилось, что для роста раковой опухоли ее клеткам необходима способность восстанавливать свои теломеры. Иначе в ходе частых клеточных делений эти структуры быстро исчезнут – задолго до возникновения серьезной угрозы для нашего здоровья. Обычно такая способность возникает в результате активации отключенного гена, кодирующего фермент теломеразу. Этот ген присутствует во всех наших клетках, но рано или поздно инактивируется и уже никогда или большую часть времени никак себя не проявляет.

Следовательно, “заражая” клетки пациента “суицидальным геном”, который включался бы при повышении уровня теломеразы, мы снабжали бы их внутренним механизмом самоуничтожения. Это избавило бы нас от необходимости нацеливать на раковые клетки лекарства или иммунную систему. Образно говоря, враг, едва решившись на агрессию, сам накладывает бы на себя руки.

В принципе, создать “суицидальный ген”, разрушающий клетку при наличии в ней определенного белка, вполне возможно. Фактически это уже делалось у лабораторных животных с экспериментальными раковыми опухолями при помощи регулирующих апоптоз генов³³. Невосприимчивость к апоптозным сигналам анергических Т-лимфоцитов можно преодолеть, упорно бомбардируя их приказами покончить с собой. Однако одна из разрабатываемых сейчас альтернатив намного перспективнее. Она использует легче контролируемый – и, следовательно, более безопасный – способ введения в клетку гена, кодирующего белок, который сам по себе практически безвреден, но активирует так называемое “пролекарство”, т.е. неактивную форму смертельного медикамента.

Пролекарства – это вещества, требующие для своего терапевтического действия определенной формы метаболизации организмом, т.е. химического превращения в фармакологически активное соединение. Большинство пролекарств активируется ферментами нашей печени, выпускающей в кровоток их полезные нам производные. Другие больше похожи на так называемых “спящих агентов”: они незаметно распространяются по всему организму и “залегают на дно” до тех пор, пока не получают заранее оговоренного сигнала, который заставляет их действовать, т.е. прицельно поражать свои мишени.

Примерно так работают некоторые противовирусные средства, например *ганцикловир* (Цитовен/Цимевен), используемый против герпеса. Он останавливает размножение вируса, не давая тому пользоваться необходимой для этого системой репликации ДНК клетки-хозяина. Говоря более конкретно, лекарство подавляет действие вирусного варианта *тимидинкиназы* (ТК), участвующего в синтезе ДНК фермента.

ТК готовит азотистое основание тимин (одну из “букв” генетического кода) к встраиванию в цепочку ДНК путем фосфорилирования, т.е. присоединения к его производному, тимидину, фосфатной группы, отделяемой от молекулы АТФ – нашей “энергетической валюты”. Ганцикловир ведет себя как молекулярный двойник ценного сотрудника, внедренный для диверсии на вражеское производство. Благодаря структурному сходству с тимидином он обманывает вирусную ТК, которая по ошибке фосфорилирует лекарство.

После этого ганцикловир-фосфат продолжает свое черное дело, выда-

вая себя за тимидин–фосфат на сборочном конвейере ДНК и встраиваясь в ее синтезируемую цепочку. Задача внедренного агента выполнена: оказавшись в составе растущей молекулы, он останавливает ее *дальнейшее* удлинение. В результате вирус не может копировать свою ДНК, а значит размножаться. Его атака на организм прекращается. Иммуной системе остается лишь обнаружить и уничтожить немногочисленные клетки, в которых он прячется, никак не влияя на наше здоровье.

Если бы ганцикловир умел так же ловко обманывать не только вирусный, но и наш *собственный*, человеческий вариант ТК, его можно было бы с успехом использовать как противораковое средство. Злокачественные клетки становятся опасными за счет своего быстрого размножения. Значит, нарушив необходимый для клеточного деления синтез ДНК, можно эту опасность ликвидировать. Естественно, такой подход чреват серьезнейшими побочными эффектами, поскольку он одновременно нарушал бы необходимое организму размножение его *нормальных* клеток. В случае рака с таким ущербом еще *можно было бы* смириться – пациент оправился бы от него после отмены укротившего опухоль лекарства. Однако при борьбе с вирусом того же герпеса этот вариант абсолютно неприемлем.

В любом случае ганцикловиру редко удастся провести человеческую ТК, поэтому он подавляет в основном репликацию вируса, хотя и несколько ухудшает у пациента регенерацию клеток крови и выработку сперматозоидов. Однако недавно группа японских и американских ученых продемонстрировала, что систему вирусная ТК/ганцикловир в принципе можно использовать для подавления рака. Надо лишь научиться с помощью генной терапии вводить этот фермент во все клетки пациента, но *включать* его только в злокачественных.

Как уже говорилось, одно из характерных отличий раковых клеток от нормальных, которое можно было бы использовать для избирательной активации вирусной ТК – присутствие активной теломеразы. Присоединив ген этой ТК к “пусковому механизму” (*промотору*), включающему транскрипцию только при наличии теломеразы, мы заставили бы вирусный фермент останавливать деление злокачественных клеток, тогда как почти во всех остальных он вообще не синтезировался бы.

Описанная схема напоминает биотехнологический эквивалент одного из хитроумных многоступенчатых приспособлений, которые используются в настольной игре “мышеловка”. Ученые ставят свою “ловушку”, сначала засеивая все клетки пациента копиями гена, кодирующего вирусную ТК, в совокупности с реагирующим на теломеразу промотором. После этого пациент глотает таблетки ганцикловира, который опять же неизбирательно проникает во все его клетки.

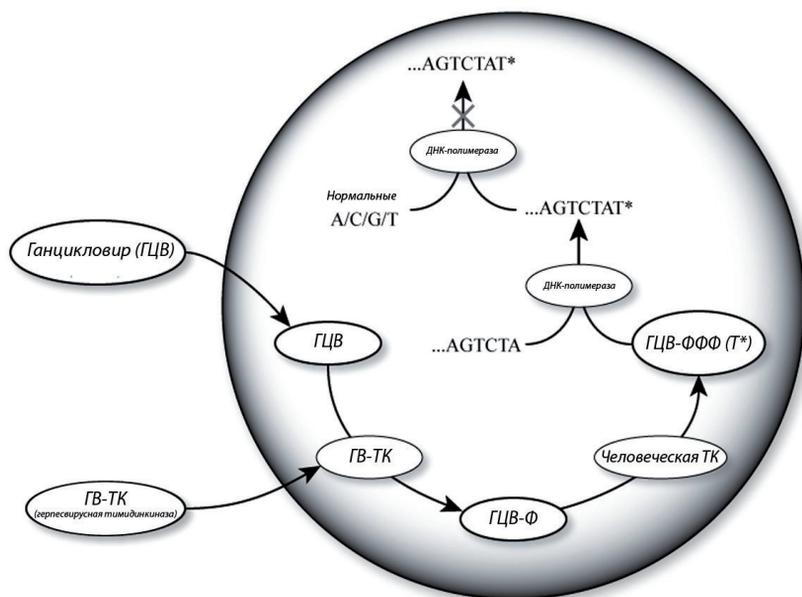


Рисунок 5. Схема использования ганцикловира и вирусной тимидинкиназы для борьбы с раковыми клетками млекопитающих.

В подавляющем большинстве из них лекарство никак себя не проявляет, поскольку почти по всему человеческому организму теломераза отсутствует. Однако, когда ганцикловир попадает в раковую клетку, ловушка срабатывает. Присутствующая там теломераза запускает образование вирусной ТК; та фосфорилирует ганцикловир, делая его пригодным для присоединения к растущей копии клеточной ДНК; синтезирующий ее фермент (ДНК-полимераза), принимая ганцикловир-фосфат за тимидин-фосфат (нормальную “букву” генетического кода), встраивает лекарство в незавершенную цепочку ДНК. В этот момент пора кричать: “Мышеловка!”, поскольку дальнейший синтез ДНК становится невозможным, клеточное деление – тоже, и рост раковой опухоли прекращается (см. **Рисунок 5**).

Схема сложная, но она действовала в пробирочных экспериментах на раковые клетки печени, почек, поджелудочной и щитовидной желез. Более того, была доказана ее практическая безопасность для нормальных клеток крысиной щитовидки и человеческой кожи³⁴. В результате ученые перешли к следующему этапу ее реализации – клиническому испытанию на лабораторных животных.

Сначала они изготовили две партии гена вирусной ТК: у одной промотор активировался теломеразой, а у другой должен был “включаться” как в раковых, так и в нормальных клетках. Потом они ввели такие молекулярные конструкции в вирусы того же семейства, что и возбудители обычной простуды, позволив им буквально *заразить* животных генетическими “ловушками”. Первыми получили их здоровые особи – для проверки потенциальных побочных эффектов. Как и ожидалось, вирусная ТК, синтезируемая с участием неизбежного промотора, после инъекции ганцикловира привела к тяжелому поражению печени. Если же ее ген был связан с промотором, активируемым теломеразой, отрицательных последствий практически не наблюдалось – впрочем, как и положительных, поскольку раковые клетки, экспрессирующие теломеразу, тоже отсутствовали.

После этого ученые перешли к следующей стадии испытаний: тестированию этой терапии на животных с имплантированными клетками человеческой карциномы щитовидки. Когда им ввели ген вирусной ТК с промотором, активация которого *не* зависит от присутствия теломеразы, рост опухоли полностью остановился, но, как и ожидалось, это одновременно не дало размножаться нормальным клеткам, что привело к тяжелому поражению печени.

Однако при *избирательном* нацеливании вирусной ТК на раковые клетки с помощью зависимого от *теломеразы* промотора ганцикловир прекратил рост опухоли так же эффективно, как и в предыдущем случае, но без наблюдавшегося при этом токсичного эффекта. Безопасность такого высокоселективного подхода становится еще более убедительной, если вспомнить, что вирусную ТК можно включать и выключать, соответственно вводя ганцикловир и прекращая его применение.

☞ Знать врага в лицо

Очевидно, в поисках новых способов *избирательного* (т.е. безвредного для организма в целом) нацеливания на раковые клетки и их уничтожения биологи бывают такими же изобретательными, как и конструкторские бюро оружейных компаний. Следовательно, вполне можно ожидать, что уже применяемые или разрабатываемые противораковые методы удастся адаптировать для борьбы с анергическими Т-лимфоцитами. В данном случае враг, можно сказать, ходит с нарисованной прямо на груди мишенью. Аномальные рецепторные свойства, лишаящие эти клетки способности распознавать целевые антигены (отсутствие CD28) и размножаться в ответ на инфекцию (присутствие одновременно KLRG1 и CD57), а, возможно, и некоторые другие метки (например, пониженный уровень CD154, связанный с

недостаточной поддержкой старыми Т-лимфоцитами развития В-клеток) позволяют ученым легко распознавать этих вредителей и, следовательно, пригодны для нацеливания на них разрушающих агентов.

Обрушить гнев иммунной системы на ее угнетателей – цель заманчивая, однако иммунизация (и активная, и пассивная) против анергических лимфоцитов связана с существенными проблемами. Прежде всего, их самая характерная антигенная особенность – *отсутствие* поверхностного белка CD28. Можно, конечно, использовать для нацеливания сочетание рецепторов KLRG1 и CD57, но еще не ясно, все ли нежелательные лимфоциты экспрессируют эти два белка и не несут ли такие же метки другие, нужные нам, клетки. Правда, иммунологи уже идентифицируют анергические лимфоциты с помощью наборов антител, однако применять их для иммунизации затруднительно. Не стоит также забывать, что проблему придется решать в условиях слабого действия вакцинаций, т.е. “уколы” против анергических Т-клеток, возможно, хорошо помогут только сравнительно “молодым” иммунологически индивидам. Следовательно, хотя такой подход и перспективен в отношении многих типов токсичных клеток, в случае CD8-клонов его достаточная эффективность вызывает сомнения.

Тем не менее, у нас в запасе остается еще много вариантов. Простейшим представляется применение дендримеров, позволяющих нацеливаться на клетки с помощью *множества* идентификационных меток, а заодно и воздействовать на мишени различными ядами – от явных токсинов до бора (при использовании БНЗТ).

В то время как вакцинация против анергических Т-лимфоцитов представляется проблематичной, существует и другой путь использования иммунной системы в качестве пятой колонны, помогающей восстановить власть правительства в изгнании. Если помните, анергические CD8-лимфоциты становятся проблемой, когда перестают подчиняться апоптозным приказам, ведущим в норме к демобилизации этих клеток после отражения атаки патогена, против которого они развертывались. Их строптивость объясняется выработкой избыточных количеств белка *bcl-2*: его высокий уровень блокирует апоптозные сигналы.

Это подразумевает возможность снятия такой блокады путем введения в не желающие умирать клетки “антисмысловой РНК” – отрезков генетического материала, комплементарных к транскрибируемому с ДНК матрицам для синтеза *bcl*, а в результате их инактивирующих. В результате выработка *bcl-2* как минимум ослабляется. Когда его уровень падает до нормы, а то и практически до нуля, анергические CD8-клетки снова начинают “слышать” приказы самоуничтожиться – и подчиняться им.

Приведет ли очистка “иммунологического пространства” от анергических Т-клеток к полному омоложению иммунной системы? Не могу утверж-

дать этого с уверенностью, поскольку на практике такой вариант еще не проверялся, а наш организм – невероятно сложная машина, у которой известны еще далеко не все части, не говоря уже об их функциях и взаимодействиях. Проведенные на сегодняшний день исследования четко указывают на достаточно сильное прямое и косвенное иммуносупрессивное действие этих лимфоцитов. Следовательно, избавление от них должно существенно усилить Т-клеточный иммунитет и, вполне вероятно, улучшить работу других, зависящих от Т-клеток компонентов иммунной системы. Однако насколько выраженными будут эти положительные эффекты, мы узнаем, только когда изучим их непосредственно.

Сейчас же мне ясно, что ликвидация анергических Т-клонов не отразится как минимум на одном аспекте иммунологического старения – возрастной *инволюции тимуса*. Тимус, или вилочковая железа, находится непосредственно за грудиной. Здесь созревают, превращаясь в Т-лимфоциты, иммунные клетки, вырабатываемые костным мозгом. С возрастом ткани тимуса постепенно отмирают, его размеры сокращаются, и он дает нам все меньше наивных Т-лимфоцитов. Естественно, это ограничивает возможности организма реагировать на новые угрозы.

В принципе, существует достаточно очевидный способ решения этой проблемы: стволовоклеточная терапия – весьма перспективная уже в ближайшем будущем методика, на которой я остановлюсь в следующей главе (см. там врезку “Реконструкция тимуса”) ³⁵. Речь идет о превращении недифференцированных эмбриональных (стволовых) клеток в специализированные клетки практически любых тканей, что позволило бы лечить, восстанавливать и омолаживать различные органы. Эти проблемы уже достаточно быстро решаются в экспериментах со всевозможными тканями по всему нашему телу, так что есть веский повод для оптимизма.

А сейчас я завершаю обсуждение иммунных зомби – пора рассмотреть и другие типы перегружающих организм клеток.

☞ Смертельная битва с жирным брюхом

Второй тип потенциально вредных клеток, от избытка которых желательно избавиться, – *адипоциты*, образующие жировую ткань, особенно так называемый *висцеральный* (внутренностный) жир, покрывающий внутренние органы – в отличие от *подкожного* жира, который откладывается, можно сказать, снаружи. Согласно общепризнанному мнению, с возрастом происходит “естественное” повышение резистентности к гормону *инсулину*, отвечающему за поступление аминокислот и углеводов из крови в жировые и мышечные клетки. Иными словами, он все хуже справляется со своими за-

дачами. Это ведет к целому спектру опасных метаболических изменений, наиболее выраженных при развитии сахарного диабета 2-го (“взрослого”) типа. Кроме того, широко распространено мнение о том, что с возрастом в нашем организме “естественным образом” распространяются всевозможные хронические воспаления – тело как бы медленно сгорает изнутри из-за избыточной выработки провоспалительных сигнальных молекул.

Если мы потребляем с пищей больше калорий, чем расходует, они не выделяются из организма, а накапливаются в нем. Это не недосмотр нашей эволюции, а одна из стратегий выживания. До сравнительно недавнего (по эволюционным меркам) времени люди достаточно часто сталкивались с недостатком пищи, когда запасенное впрок топливо могло спасти их от голодной смерти. Если организм не сталкивается с такими проблемами и не подвергается специальным нагрузкам (типа силовых упражнений), которые способствуют накоплению активно “сжигающей” калории мышечной ткани или росту костей, он использует простейший способ запасаения излишков топлива, превращая его в энергоемкий жир. Поскольку сейчас в развитых странах голод практически отсутствует, а физические нагрузки – вещь почти исключительно добровольная и не слишком распространенная, жировая ткань не расходуется, а постепенно накапливается с возрастом. В результате объем ее запасов отличает пожилых людей от здоровой молодежи, что позволяет в рамках моего биоинженерного подхода считать эту разницу “возрастной патологией”, даже если она и не является аномалией с чисто теоретической точки зрения.

Давно известна связь такой патологии, достигшей масштабов лишнего веса и тем более ожирения, с повышенным риском диабета, ишемической болезни и других недугов, однако каков здесь причинно-следственный механизм, выяснилось только недавно. Возможно, вы слышали, что влияние жира на здоровье зависит от его локализации в теле. “Яблочная” конституция (с накоплением жира в районе поясницы, например в случае “пивного живота”) предрасполагает к диабету и ишемической болезни гораздо сильнее, чем “грушевидная” (с основной массой жира в бедрах и ягодицах) – пусть неэстетичная, но для здоровья явно менее опасная. Биомедицинская основа такой разницы связана с относительными количествами в теле внутренностного и подкожного жира. Первый накапливается главным образом в районе поясницы, поскольку окружает органы брюшной полости, в частности печень и почки. И напротив, подкожный жир распределяется по телу гораздо равномернее, хотя в некоторых местах (например, ягодицах) его, разумеется, больше, чем в прочих.

Недавние исследования показали, что возрастное повышение инсулинорезистентности почти всегда, а возрастное усиление провоспалительной

сигнализации во многих случаях можно связать с накоплением избытка внутренностного жира, которое предрасполагает к развитию всех аспектов метаболического расстройства, известного как *метаболический синдром* или *синдром X*. Помимо инсулинорезистентности, он включает недостаток “хорошего” холестерина (липопротеидов высокой плотности, ЛПВП), повышенное артериальное давление, а также избыток в крови *триглицеридов* (жира) и сахара (глюкозы).

Еще более характерно то, что при сравнении людей разного возраста неодинаковая эффективность у них инсулина сглаживается, если сделать поправку на количество в теле жира, особенно внутренностного^{36,37}.

Большое впечатление производят результаты исследований, проведенных в Медицинском колледже имени Альберта Эйнштейна. Резистентность пожилых животных к инсулину и другим гормонам резко снижалась в результате очень агрессивной операции по удалению большей части внутренностного жира, т.е. после того, как состав их тела приближался к характерному для гораздо более молодых особей или животных того же возраста, но получающих низкокалорийную диету (среди его плюсов – существенное ослабление и возрастной инсулинорезистентности, и провоспалительной стимуляции)³⁸. Последнее наблюдение особенно показательное, поскольку, как показало дополнительное исследование, у сидящих на голодном пайке пожилых особей *больше*, чем у молодых, подкожного и меньше внутренностного жира, а эффективность инсулина у этих групп почти одинакова.

О вреде внутренностного жира говорит также недавнее исследование, подтвердившее неэффективность липосакции в смысле снижения инсулинорезистентности, связанной с исходным ожирением. Как известно, потенциальная опасность этой операции сводится к минимуму именно потому, что при ней удаляется только сравнительно легкодоступные, но косметически важные подкожные жировые отложения³⁹. С другой стороны, по данным нескольких исследований, у людей с избыточным весом в результате перехода на низкокалорийную диету или усиленной физической активности инсулинорезистентность существенно снижается очень быстро – еще до заметного похудения, но *после* уменьшения объема внутренностного жира, который, к счастью, при недостатке получаемого извне топлива “сжигается” в первую очередь.

Причины всех этих наблюдений удалось объяснить, когда ученым стала понятнее природа самой жировой ткани. Когда-то ее считали просто инертным хранилищем топлива – чем-то вроде запасной канистры с бензином в багажнике. Теперь мы знаем, что это метаболически активная, динамическая ткань, которая секретирует гормоны и другие сигнальные молекулы и, соответственно, на них реагирует. Как стало известно, помимо адипоцитов, опорных соеди-

нительнотканых элементов, нервов и кровеносных сосудов, наши жировые отложения содержат также иммунные клетки, в частности макрофаги. Фактически адипоциты происходят от тех же предшественников, что и макрофаги, и секретируют много общих с ними регуляторных молекул, включая способствующий свертыванию крови *ингибитор-1 активатора плазминогена* и такие провоспалительные агенты (*цитокины*), как *альфа-фактор некроза опухоли*, *моноцит-хемоаттрактантный белок-1* и *интерлейкин-6*.

По мере разрастания жировой ткани адипоциты выделяют все больше провоспалительных молекул, некоторые из которых стимулируют заселение ее макрофагами, а другие заставляют общие клетки-предшественники адипоцитов и макрофагов дифференцироваться в сторону последних. Макрофаги, в свою очередь, выделяют дополнительные провоспалительные молекулы: возникает так называемая положительная обратная связь – самостимуляция воспалительного процесса.

Однако самым впечатляющим за последнее десятилетие открытием в зарождающейся науке о жире является то, что эти сигнальные молекулы усиливают не только потенциально патологическое системное воспаление, но и инсулинорезистентность. Как показывают исследования, изолированные мышечные и жировые клетки становятся инсулинорезистентными при обработке их вырабатываемыми адипоцитами и макрофагами провоспалительными агентами. Кроме того, повышенная инсулинорезистентность подопытных грызунов снижается аспирином, отчасти потому, что он блокирует провоспалительный эффект цитокинов. Причем такая связь наблюдается не только в далеких от реальности лабораторных условиях: при *сепсисе* (заражении крови, т.е. сильном системном воспалении, вызываемом тяжелой инфекцией) у людей часто развивается очень высокая инсулинорезистентность – как часть иммунного ответа.

Очевидно, перечисленные и связанные с ними моменты будут еще десятилетиями давать работу специалистам, занимающимся фундаментальным и клиническим изучением диабета, заставляя их разрешать парадоксы, распутывать сложно переплетенные метаболические пути, перепроверять на различных моделях полученные результаты. К счастью, для наших *инженерных* целей дожидаться окончательных выводов этих исследований не обязательно: нам достаточно наблюдать патологию и устранять ее.

☞ Традиционный подход

Очевидно, бороться с лишним жиром можно двумя простыми, дешевыми и никак не связанными с биотехнологическим прогрессом способами – *диетой* и *физическими нагрузками*. К сожалению, как показывают десятиле-

тия исследований и столетия эмпирических наблюдений, большинству людей, набравших лишний вес, очень трудно от него избавиться. Ежедневный перебор всего лишь 100 ккал, что эквивалентно одному средних размеров печеню, ведет к типичному для человека постепенному потолстению, происходящему за десятилетия между окончанием школы и выходом на пенсию. И хотя набрать лишние килограммы легко, сбросить их, а тем более сохранять оптимальный вес для большинства людей сложно. Впрочем, ситуация не так ужасна, как часто приходится слышать. Как показывают исследования, примерно каждый пятый человек с лишним весом успешно добивается его стойкого снижения, и уже выясняются необходимые для этого условия. Тем не менее, метаболические последствия избытка внутреннего жира слишком опасны, а размах ширящейся на наших глазах эпидемии ожирения слишком грандиозен, чтобы оставлять эту форму возрастной патологии на откуп программам самолечения или централизованным мерам по оздоровлению нынешней “токсичной пищевой среды”⁴⁰. Будем реалистами: если мы не готовы доверить судьбы миллионов наших современников внезапному всплеску личной или политической сознательности, надо искать биомедицинские решения проблемы внутреннего жира.

☞ Сжигание жира

Один из способов избавления от избытка внутреннего жира – его усиленное “сжигание”. Естественно ученые уже десятилетиями пытаются создать ускоряющие этот процесс лекарства, но пока довольно скромные результаты дают тут только амфетамины, а их побочные эффекты и риск развития зависимости явно не входят в наши планы.

Несколько лет большие надежды в смысле борьбы с жиром и сохранения инсулиночувствительности связывались с регулирующим аппетит гормоном *лептином*. Крайне редкая генетическая мутация, ведущая к врожденному его отсутствию, вызывает и у грызунов, и у людей чудовищное ожирение, а при инъекции таким мышам лептина они быстро худеют. Если заставить грызунов – с помощью генной инженерии – вырабатывать больше лептина внутри их адипоцитов, животные потребляют на 30–50% меньше корма, их инсулиночувствительность возрастает, а жир почти полностью исчезает. Более того, последние эффекты даже сильнее, чем можно было бы объяснить только ослаблением аппетита⁴¹. Адипоциты с дополнительным лептиновым геном экспрессировали и другие гены, которые активируют митохондрии, превращаясь в настоящие “жиросжигающие машинки”⁴². Однако, как ни парадоксально, хотя инъекции лептина ведут к быстрому избавлению от жира грызунов любой упитанности, уровень этого гормона, застав-

ляющий худеть стройных мышей, *исходно* наблюдается и в крови их тучных сородичей, которым, соответственно, для аналогичного сбрасывания веса требуется гораздо более высокая его концентрация. Отчасти это объясняется тем, что, по иронии судьбы, лептин вырабатывается самими адипоцитами, чье заполнение жиром он же и подавляет, т.е. тучность грызунов естественным образом *прямо*, а не обратно пропорциональна его уровню. И действительно, когда фармацевтический гигант “Хоффман – Ларош” инвестировал целое состояние в разработку технологии массового производства человеческого лептина генетически модифицированными бактериями, полученный продукт как средство сбрасывания веса, мягко говоря, не оправдал ожиданий⁴³.

Это навело исследователей на мысль, что у тучных представителей обоих изученных видов развивается аналогичная резистентности к инсулину “лептинорезистентность”: уровень гормона высок, но клетки слабо реагируют на его команды отключить аппетит и включить сжигание жира. Как это объясняется на молекулярном уровне, вытекает из недавних работ Роджера Ангера, ученого, который первым привлек всеобщее внимание к лептину, продемонстрировав его мощный эффект на мышцах. Когда перекармливаешь их жирной, высококалорийной пищей, в адипоцитах ослабляется экспрессия генов, кодирующих рецепторы лептина на их поверхности, а в результате клетки перестают воспринимать его команды⁴⁴. Аналогичным образом, неопубликованные исследования жировой ткани людей со значительным избытком веса показали, что экспрессия у них гена лептинового рецептора постоянно очень слаба (вплоть до не выявляемой), тогда как у худых молодых людей она сильно колеблется – от довольно низкой до крайне высокой⁴⁵.

К сожалению, как и в случае самого лептина, способ использования гена, кодирующего его рецептор, для борьбы с отрицательными эффектами внутренностного жира неясен. Мыши с лишним геном лептинового рецептора, даже оставаясь худыми на чересчур калорийной диете, не избегают отрицательных последствий перекорма полностью: у них наблюдается такая же “эктопическая” (т.е. находящаяся в неполюженном месте) жировая инфильтрация печени, мышц и сердца, как и у евших ту же пищу мышей без дополнительных лептиновых рецепторов. Инсулинорезистентность – главный интересующий нас патологический результат избытка внутренностного жира – в обоих случаях была одинаково высокой.

Хотя можно было бы придумать, как улучшить ситуацию, неоднократно включая и выключая этот ген, а в результате восстанавливая инсулиночувствительность, непонятно, что делать с эктопическим жиром. Очевидно, при отключении гена снова возникнет тот же самый калорийный дис-

баланс, который изначально привел к разрастанию адипоцитов. Мы могли бы уменьшать их размеры при каждом раунде терапии, но у нас нет путей избавления от самих этих клеток, а в течение существенно удлинившейся жизни обилие в брюшной полости даже сравнительно мелких адипоцитов, скорее всего, привело бы к метаболической катастрофе.

☞ **Реальное** урезание жира

По-видимому, более реалистичное решение проблемы внутренностного жира – не укрошение, а уничтожение этой ткани, т.е. значительного количества ее ненужных нам разостлевших адипоцитов. Вероятно, против них можно было бы использовать прицельные терапевтические методы, обсуждавшиеся выше применительно к раковым клеткам и анергическим Т-лимфоцитам. Правда, в отличие от них, у внутренностных адипоцитов неизвестно специфических меток, но в данном случае полного уничтожения противника и не требуется. В отличие от раковых и анергических Т-клеток, *некоторое количество* жировой ткани, даже внутренностной, не только метаболически безвредно, но и жизненно необходимо. Это не только запасной бак с горючим, запасы которого мы ежедневно расходует и пополняем, но и источник обсуждавшихся выше важных для нас сигнальных молекул, в частности регулирующих энергетический обмен гормонов и воспалительных пептидов. Как и все прочие компоненты нашего организма, они созданы эволюцией для его же пользы. Следовательно, задача противозрастной биоинженерии – бороться не с самим жиром, а с вредом, который он наносит в стареющем теле.

☞ **Живые трупы**

В последней части этой главы мы рассмотрим еще один тип токсичных клеток, которые называются *стареющими*^{6*46}. Такой термин предложил по аналогии (довольно сомнительной) с пожилыми людьми один из открывших их ученых, доктор Леонард Хейфлик, работавший тогда в Уистаровском институте (Филадельфия). Эти клетки, как и обсуждавшиеся выше, начинают свой путь нормальными компонентами кожи, суставов, других структур организма. Обычно они ведут себя тихо и не делятся, но способны размножаться по его требованию, что входит в их физиологические функции, – в отличие от *постмитотических* клеток, которые в зрелом состоянии полностью утрачивают способность к делению и, если замещаются, то только за счет запаса стволовых клеток.

Определяющим признаком стареющих клеток, как и постмитотических, является неспособность делиться. Хейфлик наблюдал, что клетки определенных тканей, вопреки общепринятому в те дни мнению, не размножа-

ются в чашках Петри бесконечно долго: после определенного количества вполне стандартных делений они внезапно впадают в сумеречное состояние – не умирают, но становятся явно аномальными. Приобретают бугристую, с нервными краями форму. Не образуют, как в молодых культурах, четких круглых колоний из плотно контактирующих между собой клеток. Но главное – прекращают размножаться.

Термин “старющие” применительно к этим клеткам, как уже говорилось, не вполне корректен. Многие считают “старение” неизбежной судьбой всех клеток организма и в конечном итоге причиной его более или менее патологических возрастных изменений. Более того, этот термин ассоциируется с сомнамбулическими стариками, со скрипом доживающими свои последние дни, не принося никакой пользы окружающим, но практически и не вредя им. Может сложиться впечатление, что их единственная вина – возрастное ослабление органов, работу которых они уже не в силах поддерживать.

Фактически же стареющие клетки обычно крайне редки даже у самых глубоких стариков ⁴⁷. Однако их потенциальная роль в наших возрастных изменениях оказалась намного сложнее – и гораздо *активнее*, чем предполагалось ранее.

Самая очевидная характеристика таких клеток, как уже говорилось, – утрата способности к размножению. Тем не менее, как одряхлевшие развратники, они отчаянно *пытаются* поддерживать свою былую репутацию, выделяя вещества, которые, хотя и являлись некогда необходимыми для их нормальной работы в составе здоровой ткани, могут, вырабатываясь в избыточном количестве, индуцировать развитие рака. Это связано с различными механизмами.

Во-первых, к самым распространенным сигнальным молекулам, избыточно синтезируемым стареющими клетками, относятся химические посредники типа *эпидермального фактора роста*, которые непосредственно стимулируют деление их соседей. Во-вторых, многие стареющие клетки избыточно синтезируют расщепляющие белки ферменты, в частности *матриксомые металлопротеиназы* (ММП), играющие роль “демонтажников” при тканевой перестройке. Они выполняют очень важную функцию – разбирают старые, поврежденные “леса” (матрикс), удерживающие клетки внутри ткани, и расчищают тем самым место для ее роста. Однако, снос в ходе перестройки дома его наружную стену, вы сильно рискуете находящимся внутри имуществом. Повышенная или бесконтрольная активность ММП создает аналогичную ситуацию: раковые клетки, не удерживаемые больше матриксом ткани, в которой возникли, могут мигрировать из нее в совершенно другие участки организма, дав там *метастазы*.

Позднее ученые обнаружили еще один путь потенциальной стимуляции стареющими клетками начавшегося злокачественного процесса: они создают опасную передозировку фактора роста сосудистого эндотелия (ФРСЭ)⁴⁸ и стромальноклеточного фактора-1 (СКФ1)⁴⁹, которые способствуют образованию новых кровеносных сосудов.

Как видите, картина намного сложнее, чем казалось еще недавно. Вероятно, феномен клеточного старения – эволюционная реакция на возрастное повреждение ДНК, страхующая нас от ракового роста (я подробнее остановлюсь на этом ниже). Механизм в краткосрочной перспективе весьма эффективный: прекращается чреватое онкологическими последствиями размножение молодой клетки. Однако, вполне вероятно, что само ее стареющее состояние в конечном итоге способствует развитию рака, дестабилизируя поведение соседей. Очевидно, от источника такой дестабилизации желательнее избавиться.

☞ Отправляя зомби на покой

Один из способов избавления от стареющих клеток – их “омоложение”. В экспериментах с клеточными культурами этого можно добиться разными методами, в частности путем удлинения израсходованных теломер теломеразой или устранения белков, ответственных за старение. Однако такое “омоложение” создает онкологический риск: обычно клетки стареют в ответ на свои потенциально канцерогенные изменения, включая повреждения ДНК, гиперактивность стимулирующих раковый рост генов или (опять же) чрезмерное укорочение теломер, способствующее мутагенному состоянию. Возобновление в такой ситуации размножения перенесет нас, так сказать, из огня старения в полямь рака.

Аналогичным образом, подавление в стареющих клетках потенциально опасных метаболических процессов – подход рискованный, поскольку они же необходимы для нормальной работы других, здоровых клеток. Хроническая блокада ростовых сигналов, ферментов и воспалительных посредников, вполне вероятно, не позволит стареющим клеткам, образно говоря, орошать посевы рака, но одновременно приведет к клеточному “неурожаю” по всему организму.

Биоинженерный подход к этим дилеммам, как всегда, заключается в устранении не причины, а следствия. Мы готовы сохранить созданный эволюцией механизм обезвреживания потенциально канцерогенных клеток, не трогая метаболическую регуляцию собственно процесса их старения. В самом деле, целая гл.12 посвящена одной из наших главных целей – перестройке всего организма таким образом, чтобы он стал почти неуязвим для рака, путем аналогичной “кастрации” всех клеток задолго до того, как они

начнут грозить нам бесконтрольным размножением. Однако мы не собираемся мириться с опасностью, создаваемой самими стареющими клетками, и надеемся найти способ их уничтожения.

☞ Серебряные пули

Первый заметный прогресс в этой области наметился в 1995 в Берклейской национальной лаборатории имени Лоуренса (США). Мы обязаны ему группе, возглавлявшейся доктором Джудит Кампизи, одним из моих соавторов при составлении исходного научного манифеста SENS. Вместе со своими сотрудниками она обнаружила, что сравнительно легкий, надежный тест на активность фермента под названием *ассоциированная со старением бета-галактозидаза* (АС-бета-гал) позволяет выявлять стареющие клетки не только в чашках Петри, но и в образцах кожи пожилых людей.

К сожалению, АС-бета-гал не является *абсолютно* избирательным маркером старения. Как показали дальнейшие исследования, этот фермент встречается и в обычных клетках. Обычно его уровень там очень низок, но бывает и высоким. Оказалось, что, вопреки первоначальной интерпретации результатов лаборатории Кампизи, этот фермент фактически идентичен одному из нормальных компонентов наших лизосом – клеточных “мусоросжигателей”, засорение которых (см. гл.7) лежит в основе многих тяжелых возрастных патологий. Переход к стареющему статусу не означает внезапного появления АС-бета-гал в основном веществе клеток: похоже, в низкой концентрации он присутствует там всегда, независимо от их состояния. Это подтверждается анализами, определяющими уровень *самого фермента*, однако обычно его так мало, что слишком грубыми методами, исходно использованными группой Кампизи, соответствующая *активность*, если и выявляется, то едва заметна^{50,51,52}.

Однако по мере прохождения клеткой циклов деления, все более приближающих ее к старению, уровень АС-бета-гал возрастает⁵³. Вероятно, начинается ее избыточный синтез – как реакция на возрастные стрессы, в частности на необходимость дополнительных лизосом, поскольку их эффективность постепенно снижается (а также в связи с замедлением клеточного размножения, а значит, и “разбавления” отходов, что увеличивает нагрузку на эти органеллы). Рано или поздно *уровень* фермента становится достаточным для выявления его *активности* даже в субоптимальных условиях.

Характерно, что аномально много АС-бета-гал обнаруживается также в клетках из тканей, испытывающих стресс, обусловленный воспалительными заболеваниями, которые стимулируют клеточное размножение (например хроническим гепатитом С, атеросклерозом, варикозными язвами). Но

самое интересное – ровень этого фермента подскакивает и в клетках, переживающих “кризис”^{54,55} – период, когда они, каким-то образом избежав старения, продолжают делиться, расходуя свои теломеры. Обычно они рано или поздно просто “выдыхаются”, но иногда претерпевают мутацию, снимающую блокаду с теломеразных генов, что почти неизбежно ведет к их злокачественному перерождению.

Из всего вышесказанного следует вывод: АС-бета-гал – фермент, высокий уровень которого в основном веществе клетки связан с переживанием ею какого-то стресса, который в конечном итоге может вредить ее соседям. Отсюда следует, что, используя богатство этим ферментом как маркер для разрушения стареющих клеток, мы одновременно уничтожили бы и некоторые полезные нам “случайные цели”.

Однако можно разработать систему двойного контроля, помогающую выпалывать больше собственно стареющих клеток и минимум безобидных (но “подозрительно выглядящих”). Это связано с тем, что у первых аномально высок уровень не только АС-бета-гал, но и других молекул, участвующих в запрограммированном старении. Например в стареющих клетках кожи павиана содержится активированная форма фермента АТМ-киназы, который реагирует на повреждения ДНК, активируя несколько генов-супрессоров опухолей, включая знаменитый *p53*. Для стареющих клеток характерны также высокие уровни самого *p53*, связывающего его белка (53BP1), необходимого для взаимодействия этого гена с АТМ-киназой, и *p21* – регулятора старения, действующего под управлением *p53*⁵⁶. В некоторых стареющих клетках много также *p16*, еще одного важного регулятора данного процесса. Уровень АТМ-киназы по еще не ясным причинам медленно растет с возрастом также в нестареющих клетках, поэтому, взятый в изоляции, он не является надежным маркером старения. Однако он, как и другие перечисленные показатели, потенциально может использоваться для нашего двойного контроля – в сочетании с несколькими белками, одновременное присутствие которых отличает стареющую клетку от прочих, где по разным причинам они экспрессируются по отдельности⁵⁷.

В этой главе мы рассматривали возрастное накопление токсичных клеток и возможные биотехнологические способы освобождения от них, что должно привести к омоложению организма – усилению его иммунной системы, ослаблению метаболических нарушений, защите клеток от ракового перерождения. В следующей главе я обращаюсь к противоположной проблеме: возрастной *утрате* клеток, а также научным и – не менее серьезным – этическим проблемам, с которыми мы сталкиваемся, разрабатывая методы обновления наших тканей свежим биологическим материалом.

НОВЫЕ КЛЕТКИ ВМЕСТО СТАРЫХ



На протяжении всей нашей жизни мы постепенно утрачиваем важные для сохранения здоровья клетки. Потерей их популяций, ответственных за те или иные жизненно важные функции, вызываются многие угрожающие жизни возрастные патологии, например болезнь Паркинсона. К счастью, терапевтические методы, основанные на исследованиях стволовых клеток, дают нам возможность восстанавливать такие утраты, буквально обновляя забарахлившие ткани и органы. Однако для реализации этой задачи надо решить ряд как научных, так и морально-этических проблем.

✎ НЕИМОВЕРНЫЕ УСИЛИЯ, потребовавшиеся для созыва конференции, позади: с огромным облегчением я вижу, как на трибуне перед плотной толпой коллег появляется человек, совершивший революцию в биологии стволовых клеток. Речь идет о второй организованной мною в Кембридже конференции, посвященной научному прогрессу в области обращения процесса человеческого старения, когда я ужасно переживал, удастся ли закрепить успех первого моего такого рода опыта. Я вхожу в правление Международ-

ной ассоциации биомедицинской геронтологии (МАБГ) – одного из немногих на планете объединений, четко заявляющих о своем намерении разработать биомедицинские методы решения возрастных проблем. Пару лет назад я добровольно вызвался вести ее десятую по счету конференцию. Я знал, во что впутываюсь. Если не считать интернет-ресурсов, Ассоциация почти не снабдила меня материально-техническими средствами, поэтому я рассчитывал главным образом на поддержку (прежде всего моральную) своей любимой жены Аделаиды, но это меня вполне устраивало. Учитывая наше уже оформившееся влияние на прогрессивное крыло биogerонтологического сообщества, я надеялся продвинуться в данном направлении несколько дальше и, предоставленный самому себе, радовался тому, что мне не нужно обсуждать собственные приоритеты с начальством.

Вопреки главной задаче нашей Ассоциации, предыдущие конференции МАБГ проходили по схеме, хорошо знакомой мне по всем биogerонтологическим совещаниям, в которых я участвовал (а я старался побывать на всех таких встречах): фундаментальная наука, гериатрия, работа с модельными организмами, результаты которой ученые надеются когда-нибудь использовать для создания таблеток, *замедляющих* старение человека. Я взял на себя титанический и изматывающий труд по проведению данной конференции, поскольку это давало мне возможность сделать главный упор на исследованиях, ведущих к разработке методов, *обращающих вспять* старение нашего организма, т.е. буквально его омолаживающих.

БАБГ-10, встреча, оказавшаяся, как можно теперь судить, первой собственно SENS-конференцией, имела оглушительный успех. Не хочу хвалить самого себя, но энтузиазм, с которым коллеги благодарили меня по завершении той недели, был единодушным и, безусловно, неподдельным. Присутствующих поразило и вдохновило то, что они услышали – не только в связи с высоким качеством сообщений, но и благодаря абсолютной новизне их тематики для большинства участников. Этого, впрочем, следовало ожидать: если на типичных биogerонтологических конференциях выступали почти исключительно сами биogerонтологи, я внес в программу заседаний существенный междисциплинарный элемент, предоставив слово специалистам по онкологии, диабету, стволовым клеткам и другим проблемам, чьи работы, на мой взгляд, были совершенно необходимы для разработки эффективных биомедицинских подходов, но оставались практически неизвестными для ученых, склонных втискивать себя в узкие биogerонтологические рамки.

В то же время эти специалисты получили возможность обменяться опытом с исследователями, в чьих лабораториях дегенеративные возрастные процессы, если и не обращались вспять, то, как минимум, резко затормаживались у мышей и других модельных организмов. Эти результаты редко

производят впечатление на биogerонтологов, которые сталкиваются с чем-то подобным уже лет семьдесят, начиная с первых экспериментов по ограничению калорийности питания, но стали приятным сюрпризом для онкологов и тканевых инженеров, приглашенных мною для того, чтобы мои коллеги убедились, как много ценных сведений ускользает от их внимания.

МАБГ-10 была настолько успешной в смысле достижения моих академических целей, а обращенные ко мне требования участников провести следующую подобную встречу звучали настолько искренне, что я решил воспользоваться моментом и задним числом объявить ее первой в серии дальнейших академических конференций по SENS в Кембридже – SENS-1. Я понимал: организация их целиком ляжет на мои плечи: мне не приходилось рассчитывать на поддержку (и, к счастью, ломать сопротивление) МАБГ и других научных обществ. Несмотря на все трудности этой работы, я не сомневался: игра стоит свеч.

С другой стороны, я сознавал, что первой конференцией установил для себя лично высоковатую планку и что некоторые из моих коллег настороженно отнесутся к участию в мероприятиях, проводимых не под эгидой уважаемого биogerонтологического объединения. В самом деле, вскоре после этого первого успеха ряд моих научных соперников, которые, безусловно, руководствовались наилучшими намерениями, но принадлежали к традиционной геронтологической школе, инициировали тихую кампанию по дискредитации меня как ученого. Таким образом, если я хотел привлечь на SENS-2 достойных участников и продолжать такие встречи, следовало обеспечить уровень будущей конференции, который бы, несмотря на наметившуюся оппозицию, соответствовал бы самым высоким стандартам. Я поставил перед собой амбициозную цель и надеялся, что результат превзойдет ожидания.

☞ Клетки на все руки: остерегайтесь подделок

Я знал, что когда-нибудь снова посвящу целое заседание эмбриональным стволовым клеткам (ЭСК) – “заготовкам”, из которых образуются все зрелые ткани, играющим важнейшую роль в развитии бесформенного зачатка, раннего эмбриона, в сложнейший организм с множеством разнообразнейших узко специализированных компонентов. Благодаря трагическому переплетению чисто научных проблем с этическими, юридическими и религиозными дебатами о статусе эмбрионов и допустимости абортов ЭСК является тем элементом SENS, с которым вы наверняка знакомы. Вы, безусловно, слышали, что при адекватной биохимической стимуляции ЭСК превращаются в любой тип клеток – нервные (нейроны), мышечные (миоциты), сердечные (кардиоциты), почечные и т.д.

Результат этого процесса, “дифференцированные” клетки, можно использовать для восстановления дефектных тканей, клеточные потери которых ведут к развитию многих инвалидизирующих, зачастую практически не поддающихся современной медицине болезней, включая ряд худших возрастных патологий. ЭСК понадобятся для успешного лечения паркинсонизма, спинальных травм, диабета 1-го (юношеского) типа, бокового амиотрофического склероза (болезни Шарко, или Лу Герига), инфаркта миокарда, некоторых типов рака и других дегенеративных состояний, включая собственно старение. В самом деле, в рамках чисто прагматического, инженерного определения этого процесса, намного проясняющего задачи, которые следует решить для окончательной победы над возрастом, *любое* отмирание нужных нам клеток представляет собой определенную форму возрастного поражения. А, следовательно, является одной из главных мишеней SENS.

Однако, поскольку медийное освещение этой темы концентрируется на морально-этических проблемах, а не на действительно огромном *медицинском* потенциале ЭСК, вы, возможно, не вполне четко представляете себе ключевую разницу между ЭСК и *взрослыми* стволовыми клетками. Существуют также принципиальные различия между ЭСК, полученными из эмбрионов, хранящихся в центрах репродукции, и изготовленными из зрелых клеток конкретного пациента путем их слияния с яйцеклетками, т.е. методом (мы рассмотрим его ниже), известным как *перенос ядер соматических клеток* (ПЯСК). Поэтому для начала стоит специально задержаться на этих вопросах.

ЭСК присутствуют только на самой ранней стадии эмбрионального развития, когда зародыш представляет собой *бластоцисту* – комочек клеток, формирующийся всего через несколько дней после слияния сперматозоида с яйцеклеткой. Эта стадия очень непродолжительна – к моменту имплантации в матку эмбрион развит намного сильнее. ЭСК бластоцисты дают все клетки зрелого организма, но сами они еще не дифференцированы: в ней нет ни нейронов, ни кардиомиоцитов, ни вырабатывающих инсулин *бета-клеток* поджелудочной железы и т.д. Следовательно, для превращения эмбриона в сложно устроенный организм ЭСК необходима способность развиваться в любых направлениях. Она называется *плюрипотентностью* (тотипотентностью).

У *взрослых стволовых клеток* выбор путей созревания гораздо уже, и причина этого очевидна. Они образуются на поздних стадиях развития и всю нашу жизнь сохраняются в определенных тканях как резерв для компенсации их клеточных потерь. В результате потенциал специализации ограничивается приобретением структурно-функциональных особенно-

стей, необходимых лишь для данной ткани. Например, стволовые клетки кроветворной системы могут превращаться в переносящие кислород эритроциты, разнообразные защищающие нас от инфекций лейкоциты (включая лимфоциты), необходимые для свертывания крови тромбоциты, однако (вопреки некоторым смелым заявлениям, о которых ниже) не способны дифференцироваться ни в нейроны, ни в кардиомициты. Они, образно говоря, отвечают на такую просьбу прямо и грубо: “Это не наше дело”. Верно: у них вполне определенная работа, они с ней хорошо (как правило) справляются и не собираются затыкать все возникающие в организме дырки. Такой более или менее ограниченный диапазон потенциальной специализации (“пластичности”) называют *мультипотентностью* (полипотентностью)¹

К сожалению, во многих структурах нашего тела взрослые стволовые клетки для текущего ремонта вообще отсутствуют – и, как вы догадываетесь, речь идет о местах, по которым сильнее всего бьют возрастные клеточные потери. Такая ситуация, например, характерна для значительной части головного мозга. Долгое время считалось, что весь он в ходе нормального старения постепенно теряет клетки, и возместить такие потери в принципе невозможно. Несколько лет назад эта догма рухнула – во многом благодаря работе Фрэнка Гейджа и его сотрудников из Института Солка, которые показали, что головной мозг все-таки содержит стволовые клетки, способные обновлять *определенные* его части. В результате представления неспециалистов качнулись к другой крайности: многие решили, что присутствие таких клеток позволяет *всему* мозгу бесконечно долго сохранять свою молодость и исходную работоспособность.

Однако это впечатление тоже ошибочно. Стволовые клетки, способные дифференцироваться в нейроны, образуются лишь в немногих участках головного мозга. Речь идет об области *гиппокампа*, называемой *субгранулярной зоной зубчатой извилины*, и о фрагменте *поджелудочковой зоны*, снабжающей новыми нейронами *обонятельную луковицу* (мозговую структуру, необходимую для восприятия запахов). Согласно ряду данных, некоторые из этих стволовых клеток пытаются восстанавливать части мозга, поражаемые возрастными заболеваниями, однако, судя по всему, результаты таких попыток неутешительные. Например, после инсульта небольшое число стволовых клеток субгранулярной зоны изменяет свои обычные характеристики и мигрирует к пострадавшему месту, однако более 80% их погибает в течение ближайших недель, а выжившие замещают всего лишь 0,2% погибающих при этом инциденте нейронов².

Почему мы сохраняем способность к обновлению одних областей мозга, а не других, в частности той части коры больших полушарий, где хранится

долговременная память, или их лобных долей, отвечающих за планирование и выполнение целенаправленных действий? Скорее всего, дело в том, что обонятельная луковица и зубчатая извилина – единственные места, в которых эволюция столкнулась с необходимостью регулярного замещения нейронов в течение “биологически гарантированного периода” работы мозга. Обе эти области отвечают за кратковременные функции, требующие постоянного обновления их клеточных популяций. В то же время взрослых стволовых клеток, отвечающих за компенсацию чисто возрастных потерь и профилактику связанных с ними патологий типа болезни Альцгеймера и паркинсонизма, природой не предусмотрено. Если вы помните главу 3, это объясняется следующим: хотя предпосылки таких расстройств заложены в непрерывно происходящих в мозгу молекулярных изменениях, вызываемое ими ухудшение функций не успевает достичь порога, влияющего на дарвиновскую приспособленность нашего вида, в течение сравнительно короткого периода, соответствующего продолжительности жизни палеолитического человека.

Еще один пример структуры, в которой не происходит естественного замещения отмирающих клеток, – тимус, один из ключевых органов иммунной системы, необходимый для “созревания” Т-лимфоцитов. Метод его восстановления с использованием стволовых клеток находится пока лишь в ранней стадии разработки, поэтому подробно обсуждать его нет смысла. Отмечу только, что доказательство правомерности использованной концепции связано с редкой, но очень тяжелой врожденной патологией – см. ниже врезку “Реконструкция тимуса”. При знакомстве с ней советую обратиться к главе 10, где уделено достаточно места иммунной системе в целом и Т-лимфоцитам в частности.



РЕКОНСТРУКЦИЯ ТИМУСА

Перспективы использования стволовых клеток для предупреждения инволюции тимуса вытекают из недавних успехов в лечении детей с синдромом Ди Джордже – генетической аномалией, жертвы которой рождаются с различными дефектами, включая недоразвитие, а иногда и полное отсутствие тимуса – последний случай называют “полным Ди Джордже”. До последнего времени полный Ди Джордже обычно означал быструю смерть. Не вырабатывая зрелых Т-лимфоцитов, младенцы в течение считанных месяцев после рождения погибают от безопасных для прочих людей инфекций.

Очевидный способ лечения – пересадка тимуса, однако такая операция очень сложна. Трансплантату требуется много кислорода, т.е. обильное кро-

воснабжение, а обеспечить его без натуральной васкуляризации (т.е. развития в ткани густой сети мелких кровеносных сосудов) затруднительно. Кроме того, долго возникали проблемы с отторжением пересаженного органа и гемологичной болезнью: иногда некоторые клетки костного мозга младенца самопроизвольно превращаются в аномальные Т-лимфоциты, не признающие антигенов ни чужого тимуса, ни самого пациента. В результате они яростно атакуют все его ткани – обычно с летальным исходом. Более того, *донорские* Т-лимфоциты часто ополчаются на чужеродные им клетки *реципиента*, бросаясь в не менее губительную для организма контратаку.

Недавно хирурги и иммунологи из Университета Дьюка (США) разработали метод пересадки очень тонких срезов тимусной ткани (обеспечивающих максимальное снабжение ее кислородом), вживляемых в бедро младенца, что гарантировало обильное омывание их кровью, наряду с новым иммуносупрессивным медикаментом, специфично нацеленным на Т-лимфоциты. Этот подход пока считается экспериментальным, однако результаты его постоянно улучшаются благодаря применению дополнительных новшеств, и на сегодняшний день, по-видимому, можно говорить об относительном успехе. В своем отчете за 2004 специалисты из Университета Дьюка сообщили, что пятеро из шестерых пациентов не умерли спустя 15-30 месяцев после такой операции, т.е. она существенно улучшила их выживаемость.



Если бы вместо чужих трансплантатов мы использовали стволовые клетки самого младенца, стимулируя их дифференцироваться в тимусовые, а затем пересаживая хозяину, отпала бы необходимость в потенциально опасной иммуносупрессии. Затем, если бы удалось заставить эти клетки заполнять каркас, воспроизводящий сложную структуру тимуса, включая адекватную систему его кровоснабжения, можно было бы отказаться от далеко не удовлетворительной по результатам замены этой железы тонким тканевым срезом в пользу близкого к исходному органу “трансплантата”. Достижима ли такая цель в случае именно синдрома Ди Джордже, неясно, поскольку у пациентов с ним попросту слишком мало времени. Однако, если чужой трансплантат способен давать жизнеспособные Т-лимфоциты, увеличивая выживаемость младенцев, родившихся без тимуса, я считаю вполне возможным введение *собственных клеток* больного, трансформированных в Т-лимфоциты и, если надо, встроенных в более сложную тканевую структуру, в существующий, но атрофированный орган для восстановления его молодой работоспособности.

Аналогичным образом, в нашем сердце существуют клетки, известные как “кардиопрогениторные” (предшественники сердечных) или под неко-

торыми другими названиями. В лабораторных условиях их можно заставить демонстрировать *некоторые* молекулярные характеристики стволовых клеток. Однако в организме их дифференцировка в кардиомиоциты ни разу не наблюдалась. Кстати, близкородственные им *мезенхимальные стволовые клетки* из других частей тела обладают такими же признаками, но стать кардиомиоцитами не способны в принципе. Как бы там ни было, точно известно: никакие клетки нашего тела не стремятся залечивать массивное поражение сердечной мышцы, вызываемое ее кислородным голоданием при инфаркте миокарда – это с грустью подтвердит вам и любой переживший его пациент, и кардиолог. И опять же, причина этого – скрупулезно проведенный естественным отбором холодный статистический анализ результатов растянувшейся на многие поколения генетической лотереи в доисторической среде обитания. Инфаркт миокарда не убивает тех, кому нет тридцати, следовательно, природе нет никакого резона снабжать наше сердце восстановительным механизмом, который вряд ли понадобится его владельцу до тех пор, пока тот не умрет по какой-нибудь другой причине.

На заре общественных дебатов по поводу ЭСК некоторые уважаемые лаборатории опубликовали доклады о ЭСК-подобной пластичности взрослых стволовых клеток, в частности о способности таких клеток кровеносной системы спонтанно трансформироваться в гепатоциты печени и нейроны головного мозга. Вероятно, самыми многообещающими были сообщения о дифференцировке их в кардиомиоциты после введения в сердце крыс с индуцированным инфарктом миокарда, что приводило к функциональному восстановлению этого органа. Подобные публикации вызвали самый серьезный резонанс: некоторые ученые даже начали клинические испытания на людях: клетки костного мозга инфарктников внедряли в их пораженную сердечную мышцу.

Однако в независимых лабораториях плюрипотентность этих клеток не подтвердилась. В лучшем случае наблюдалось их *слияние* со зрелыми клетками соответствующих тканей^{3,4,5,6,7,8,9,10}. Это может приносить некоторую пользу, облегчая участь их выживших после поражения клеток, например, благодаря секреции необходимых для рубцевания ростовых факторов или ускорению реваскуляризации пострадавшего участка, т.е. развития в нем новых кровеносных сосудов¹¹. Однако, хотя такие эффекты и способны обеспечить *небольшое* продление работоспособности нашего разваливающегося мотора, кровеносные стволовые клетки не в силах реконструировать его ткань ни у инфарктников, ни просто у пожилых людей, миокарду которых не повредило бы омоложение.

В самом деле, недавно “Новоанглийский медицинский журнал” опубликовал результаты первых испытаний таких клеток на перенесших инфаркт.

Выборка была достаточно крупной для обоснованных выводов о реальных результатах такой терапии (в противоположность разрозненным данным по ее безопасности и ранним сообщениям об опыте врачей и пациентов). В одном из таких испытаний¹² пользы вообще не наблюдалось, а два других^{13,14} привели, если воспользоваться редакционной формулировкой, к «слабым [статистически] значимым, но клинически сомнительным улучшениям»¹⁵ по сравнению с плацебо-контролем. Никаких данных ни за, ни против превращения кровяных стволовых клеток в кардиомиоциты не приводилось, однако упоминавшиеся выше опыты на животных к этому моменту уже развеяли возникшие было надежды на такую трансформацию.

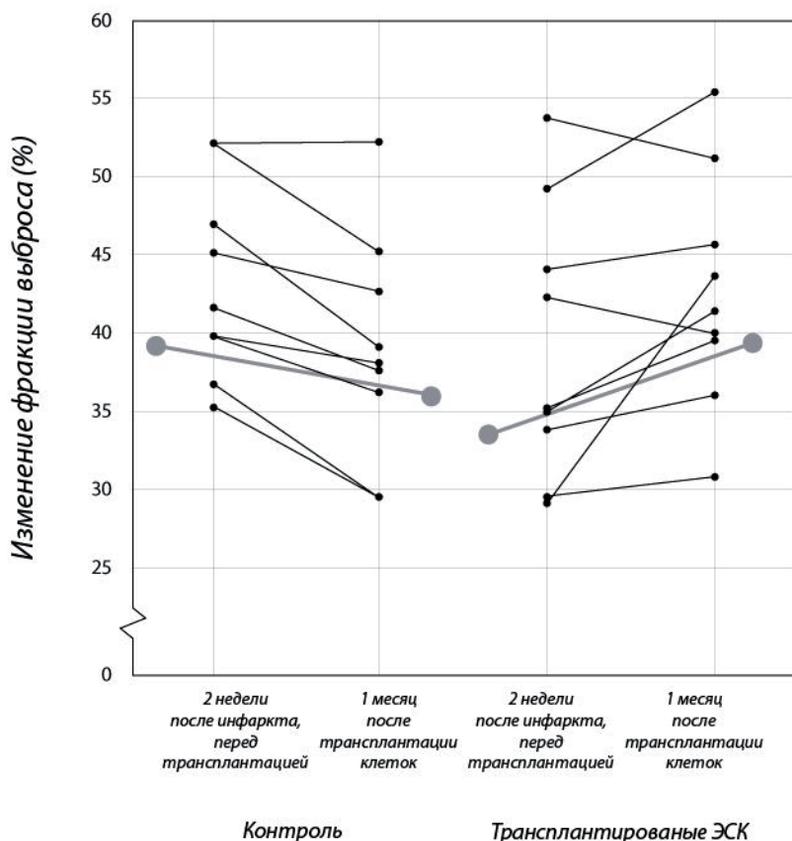


Рисунок 1А. Восстановление насосной функции сердца эмбриональными стволовыми клетками. А (вверху). Сравнение реципиентов ЭСК с контролем. Б. Сравнение контроля, ЭСК-терапии и ЭСК-терапии в сочетании с иммуносупрессорами (из¹⁶).

Сравним эти выводы с результатами исследования на овцах, в котором для лечения индуцированного инфаркта миокарда использовались ЭСК. Он был вызван у 18 животных, которым затем в течение двух недель не оказывалось никакой помощи. Тем временем ученые получили ЭСК и стимулировали у них начало дифференцировки в кардиомиоциты. До ее завершения эти клетки подсадили в сердца половины животных, а остальных оставили без лечения – для контроля.

Если терапевтический эффект взрослых стволовых клеток был сомнительным, в случае ЭСК он оказался бесспорным (см. **Рисунок 1А**). Эти клетки прижились в поврежденных сердцах и превратились в зрелые кардиомиоциты, а животные резко пошли на поправку. В течение двух недель после введения ЭСК насосная функция их сердец *улучшилась* в среднем на 6,6%. За тот же срок у контрольных овец она ухудшилась еще на 10%.

Если углубиться в детали этого исследования, поводов для оптимизма относительно кардиотерапевтического потенциала ЭСК будет еще больше. Во-первых, после индуцированного инфаркта животных две недели никак не лечили, а именно в этот период происходит основное ухудшение насосной функции сердца. Более ранняя помощь – с использованием ЭСК или традиционных медицинских методов – могла бы существенно ослабить его дегенерацию, потенциально способствуя значительному улучшению результатов ЭСК-терапии.

Во-вторых, пересаженные в данном исследовании ЭСК были не овечьими, а *мышинными* – важный момент, к которому мы вернемся ниже. Хотя эти клетки явно справились со своей задачей, т.е. созрели в кардиомиоциты, встроились в сердечную мышцу и существенно повысили ее работоспособность, резонно предположить, что ЭСК вида-реципиента благодаря своему более полному метаболическому и функциональному соответствию его тканям дали бы в данном случае лучшие результаты.

В-третьих, средний показатель по получившей ЭСК группе фактически заглушивает существенный разброс данных *внутри* нее. Учитывая возможность отторжения иммунной системой овец мышинных клеток, пяти из девяти реципиентов давали также иммуносупрессивные лекарства. Оказалось, что в этом не было необходимости: после завершения эксперимента исследователи изучили срезы миокарда всех животных и не обнаружили в них никаких признаков воспаления или иммунной атаки, независимо от того, сочеталась или нет ЭСК-терапия с медикаментозной иммуносупрессией.

Хорошая новость - но другие еще лучше. Упомянувшиеся 6,6% улучшения ЭСК-терапией насосной функции – средний результат, как с использованием иммуносупрессоров, так и без них. Когда исследователи проанализи-

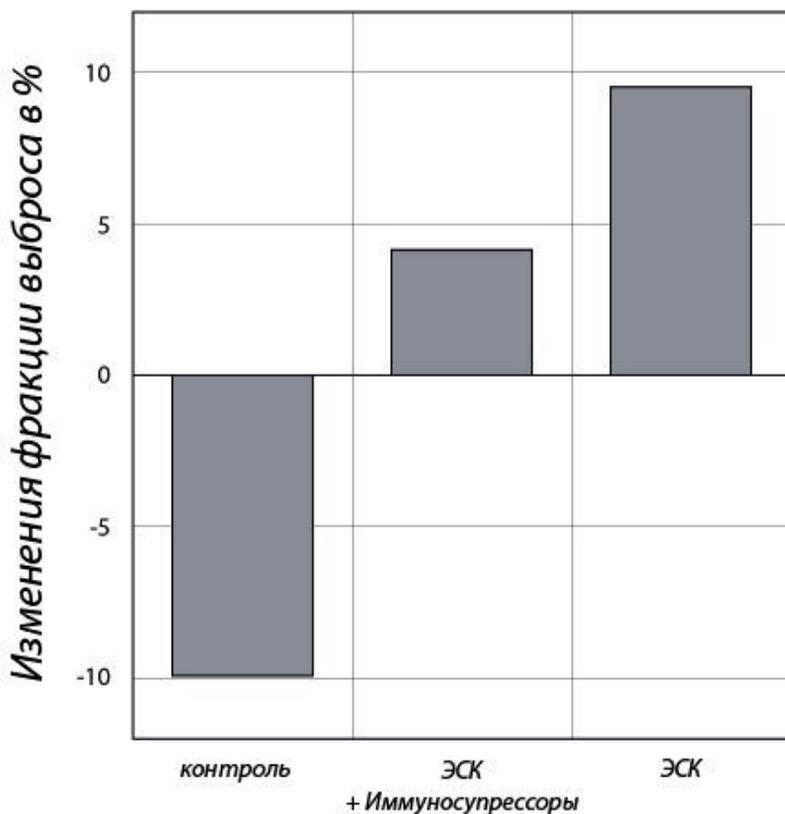


Рисунок 1Б 1 – Изменение насосной функции сердца, %; 2 – Контроль; 3 – ЭСК + иммуносупрессор; 4 – Только ЭСК.

ровали два эти варианта по отдельности, оказалось, что иммуносупрессия фактически *ослабляла* эффект лечения. У овец, получивших только ЭСК, в пораженном миокарде образовалось на 25% больше рубцовой ткани, чем у животных с дополнительным подавлением иммунной активности. А насосная функция в первом случае возросла на целых 9% против примерно 4% во втором (без всякого лечения она за *это же время* ухудшилась на 9,9% – см. **Рисунок 1Б**). Следовательно, оценивая перспективы применения ЭСК на людях, стоит ориентироваться на более высокие результаты, полученные без иммуносупрессоров, а не на усредненный показатель и, тем более, не на данные по животным с ослабленным иммунным ответом.

После публикации этого исследования появились выводы из первого сравнительного испытания ЭСК и взрослых стволовых клеток при лечении сердечного поражения животных, аналогичного тому, которое вызывается инфарктом миокарда. Терапия с использованием ЭСК оказалась явно эффективнее: они трансформировались в кардиомиоциты, стойко встраивались в ткань сердца и улучшали его работу, тогда как стволовые клетки костного мозга статистически значимого эффекта не дали¹⁷.

Это было только началом биомедицинских исследований ЭСК. В дальнейшем их использовали для лечения смоделированных у животных различных тяжелых человеческих патологий, включая диабет 1-го типа¹⁸, травмы спинного мозга^{19,20}, рассеянный склероз²¹, детский церебральный паралич²², инсульт^{23,24}, паркинсонизм²⁵, форму паралича, вызываемую вирусом, индуцирующим стандартную мышиную модель бокового амиотрофического склероза²⁶, а в последнее время и макулярную дегенерацию (утрату зрения, обусловленную отмиранием светочувствительных клеток так называемого желтого пятна в центре сетчатки)²⁷. Во всех этих случаях собственные *взрослые* стволовые клетки подопытных особей даже не начинали компенсировать клеточные потери, связанные с перечисленными болезнями.

Естественно, ни одна из названных ЭСК-терапий до сих пор не применяется в наших клиниках. Тем не менее, вполне можно ожидать, что они привели бы к значительному улучшению прогноза у соответствующих пациентов. Например, анализ предварительных испытаний на людях плодных клеток и клеток стволовоклеточных *опухолей* (т.е. не истинных ЭСК) при паркинсонизме и инсульте дает весьма обнадеживающие результаты. Скорее всего, если бы использовались собственно ЭСК, они были бы еще лучше. Недавнее введение ЭСК обезьянам с моделью паркинсонизма подтвердило способность этих клеток превращаться в нейроны требуемого типа, приживаться в нужной области головного мозга и облегчать многие симптомы болезни²⁸. Поистине, мы живем в эпоху надежд!

☞ Зачем они нам нужны

Широчайший диапазон возможной дифференцировки ЭСК и их способность к бесконечному размножению (в отличие от взрослых стволовых клеток, у которых оно имеет тенденцию прекращаться) объясняет сложившийся в ученом мире консенсус об их большем по сравнению с взрослыми стволовыми клетками терапевтическом потенциале. Впрочем, он немал и у последних. Фактически единственный в *современной клинической практике* метод стволовоклеточной терапии – пересадка костного мозга, иначе говоря, его (т.е. взрослых) стволовых клеток, получаемых от донора или от са-

мого пациента. В уже упоминавшемся редакционном резюме обычно дипломатичного “Новоанглийского медицинского журнала” часто повторяемые заявления консервативных общественных групп об эффективном лечении взрослыми стволовыми клетками 70 или “более 65” болезней справедливо названы “откровенной ложью”, а соответствующая информация, помещаемая на интернет-сайте одной из наиболее заметных организаций такого сорта – “полной чужью”.

Ученые единодушны: омоложение нашего организма возможно исключительно с помощью ЭСК - благодаря их *плюрипотентности* и просто *количеству*, необходимому для выращивания крупных тканевых трансплантатов, а иногда и целых органов. А такая задача, безусловно, возникнет. Наши клеточные потери связаны не только с инфарктами миокарда и нейродегенеративными патологиями: эти потери происходят непрерывно во всех тканях, что отрицательно сказывается на их функциях. Например, тот же паркинсонизм – результат отмирания в головном мозгу нейронов, вырабатывающих нейромедиатор *дофамин*, участвующих в тонком управлении скелетной мускулатурой. Клинический анализ ставится после потери примерно половины таких клеток, что приводит к заметным нарушениям двигательной активности, включая непроизвольное ритмичное подрагивание (тремор) и застывшее на лице безучастное, а то и злобное выражение. Однако *все мы*, ежедневно старея, утрачиваем вырабатывающие дофамин нейроны. Просто у больных паркинсонизмом этот процесс идет быстрее, и его клинический порог достигается раньше. Не имея возможности заменять утраченные клетки новыми, все мы, в конце концов, обречены на пресловутый “дрожательный паралич”, – если, как уже неоднократно повторялось, не умрем до его появления.

И такие потери идут по всему нашему организму, причем не только из-за неизбежных возрастных метаболических расстройств. Мы непрерывно лишаемся клеток вследствие молекулярных повреждений, вызываемых высокореактивными побочными продуктами нормального обмена веществ. Даже когда мы научимся устранять эти повреждения с помощью SENS-биотехнологических методов, для окончательной победы над возрастом уже нанесенный ущерб надо будет компенсировать. Естественно, потери происходят и по другим причинам. Мы регулярно разрушаем не способные замещаться клетки, стучаясь обо что-то головой, переживая моменты кислородного голодания, а также в результате *апоптоза* (“запрограммированной клеточной смерти”), когда организм фактически заставляет совершать самоубийство те из них, которые, по его мнению, начинают приносить больше вреда, чем пользы.

Является ли апоптоз одним из компонентов “старения”, вопрос спорный, но, к счастью, даже оставив его без ответа, мы вполне можем заниматься возвращением прежних сил и здоровья нашему немало поживше-

му, барахлящему телу. Замена недостающих клеток станет важнейшей частью противозрастной медицины, независимо от того, случайны их потери или речь идет о неизбежном процессе. Постепенное клеточное отмирание – это в любом случае удаление от идеала юношеского здоровья, а значит, биоинженер должен обращать вспять такую деградацию. Полная аналогия с обычным инженером, обязанным обеспечивать оптимальную работу вверенных ему механизмов.

☞ Выбрасывание ключа от аптечки

У взрослого человека эмбриональных стволовых клеток нет – только взрослые. Как уже говорилось, истинные ЭСК существуют только в бластоцистах. Следовательно, чтобы получить их, надо получить доступ к этим ранним эмбрионам. К счастью, в нашем распоряжении огромный и почти непочатый их запас – они буквально в промышленных масштабах производятся в центрах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Шансы на успешную имплантацию и вынашивание для каждого полученного путем ЭКО эмбриона до сих пор относительно низки, поэтому из сперматозоидов и яйцеклеток, сдаваемых парой родителей или донорами, производят сразу по несколько таких зачатков – с расчетом на повторные попытки. Это избавляет женщин от необходимости неоднократно подвергаться дорогой, очень неприятной и даже немного опасной гормональной обработке, необходимой для извлечения яйцеклеток. Обычно после каждой попытки ЭКО остается восемь эмбрионов, а в результате только в американских клиниках к 2002 их хранилось в замороженном состоянии порядка 400 000. Из этого количества как минимум 16 000 считались окончательно *не востребованными*, еще 45 000 были кандидатами на такой же незавидный статус²⁹, вероятность использования остальных тоже оставалась крайне низкой. Рано или поздно эти эмбрионы выбрасываются или попросту портятся, теряя способность развиваться в ребенка.

Вот почему дебаты вокруг “побочного” использования материала, получаемого в ЭКО-клиниках, вызывают такое раздражение у врачей и ученых. Эмбрионы уничтожаются *в любом случае*: у подавляющего большинства из них *нет* никаких шансов на имплантацию в матку и дальнейшее развитие в младенца. Противники ЭСК-исследований предложили гуманную альтернативу: имплантация этих излишков женщинам-добровольцам, которые донашивали бы их для последующей передачи приемным родителям. Однако даже такой радикальный вариант вряд ли сумел бы спасти от мусорного бака хоть 1% невостребованных эмбриональных запасов. Судьба не попавших в матку бластоцист все равно предрешена: единственный

вопрос – позволят ли специалистам использовать их клетки в научных и лечебных целях.

Фактически втягивание этих эмбрионов в дебаты о допустимости абортов еще более абсурдно. Бластициста - настолько примитивная стадия развития организма, что биохимического “решения”, становиться ли ей конкретным человеком, природой еще не принято. Именно поэтому все ее клетки плюрипотентны, т.е. готовы дифференцироваться в любом направлении, и привязывание ЭСК-методик к спорам вокруг абортов – очевидная этическая путаница. Например, на этой стадии эмбрион еще может разделиться на две отдельные клеточные популяции, каждая из которых может стать *самостоятельной уникальной личностью*. Это собственно и происходит при образовании однояйцовых близнецов. А поскольку клеточный шарик способен дать одного, двух и даже больше *разных людей*, говорить о его индивидуальности, человеческой сущности или, допустим, душе, очевидно, не приходится. И хотя благоговейный трепет перед жизненным потенциалом, заключенным в ЭСК вполне оправдан, это не должно затуманивать нашего этического мировосприятия настолько, чтобы забывать о *моральных* обязательствах перед пациентами, чьи *реальные* жизни зависят от тех же самых клеток, на самом деле мало отличимых от культур, выращиваемых в чашках Петри.

☞ Никодимово решение

Какими бы всемогущими ни были ЭСК не использованных ЭКО-эмбрионов, у них есть один *потенциальный* недостаток, затрудняющий медицинское использование. Эти клетки по определению чужие для пациента, а значит, являются мишенями для атаки его иммунной системы. А значит, не исключены те же самые проблемы, что и при обычной пересадке органов: с одной стороны, риск отторжения трансплантата и гомологичной болезни, с другой – опасность медикаментозной иммуносупрессии для предупреждения таких реакций.

Пока накопленные данные наводят на мысль о нашей способности во многих случаях без особого труда справляться с подобными трудностями. Такая уверенность вытекает в основном из положительного опыта экспериментального лечения с помощью ЭСК различных болезней. В большинстве этих исследований просто *предполагалось*, что проблем с отторжением не возникнет, и заранее принимались меры к их предупреждению – использовались либо иммунодефицитные животные, либо иммуносупрессивные средства. Однако впоследствии ЭСК стали применять *без* такой страховки, и результаты показали необоснованность наших опасений, по край-

ней мере, в некоторых случаях. В упоминавшемся выше эксперименте с овечьим инфарктом и в нескольких исследованиях с грызунами^{30,31} живленные реципиентам ЭСК даже *другого* биологического вида обеспечивали хорошую регенерацию тканей и не вызывали реакции отторжения.

Возможно, ЭСК находятся на такой ранней и неопределенной стадии развития, что еще не несут достаточно антигенов для возникновения иммунологического барьера даже между видами, не говоря уж об индивидах. Кроме того, похоже, ЭСК выделяют свои собственные иммуносупрессивные вещества строго локализованного действия, которые не только избирательно защищают их от иммунной атаки, но и включают в нападающих Т-киллерах механизм самоуничтожения (апоптоза)³². Поскольку такая оборонительная стратегия связана с прямыми клеточными контактами или факторами, действующими в непосредственной близости от ЭСК, системных побочных эффектов, неизбежных при использовании иммуносупрессивных медикаментов, не наблюдается.

Более того, в некоторых специфических случаях риск отторжения низок по определению, потому что сами ткани, в которые вводятся ЭСК, надежно защищены от иммунной атаки. Речь идет, например, о значительной части нервной системы: именно поэтому в ее узлах годами прячутся вирусы герпеса, успешно уничтожаемые в других местах организма.

Можно также снизить риск отторжения, вводя пациенту ЭСК из изолятов (линий), совместимых с его тканями по всем главным антигенам. Это не трудно делать, если у нас будет возможность тестировать и выбирать клеточный материал из огромного количества бластоцист, обреченных сейчас на уничтожение. Согласно расчетам, банк, включающий всего 150 случайным образом взятых из этой выборки эмбрионов, обеспечил бы прекрасную совместимость для 20%, хорошие шансы на приживаемость почти у 40% и как минимум долговременную жизнеспособность трансплантата у примерно 85% потенциальных пациентов. Повторяю: это цифры для случайной выборки. Если же проводить предварительное тестирование по всему запасу лишних ЭСК, всего 10 бластоцист гарантировали бы высшую А-степень гистосовместимости приблизительно в 40% пересадок и хорошую приживаемость более чем для двух третей реципиентов³³.

Однако целиком отметать возможность отторжения как препятствие для эффективного применения ЭСК в медицинской и противозрастной терапии пока рано. Тут хорошая новость в том, что уже существует методика, позволяющая создавать *идеально иммунологически совместимые* ЭСК для таких высокоорганизованных животных, как коровы и обезьяны, а несколько научных групп заявляют о близком достижении такого же результата и в случае человека. Речь идет об уже упоминавшемся *переносе ядер соматиче-*

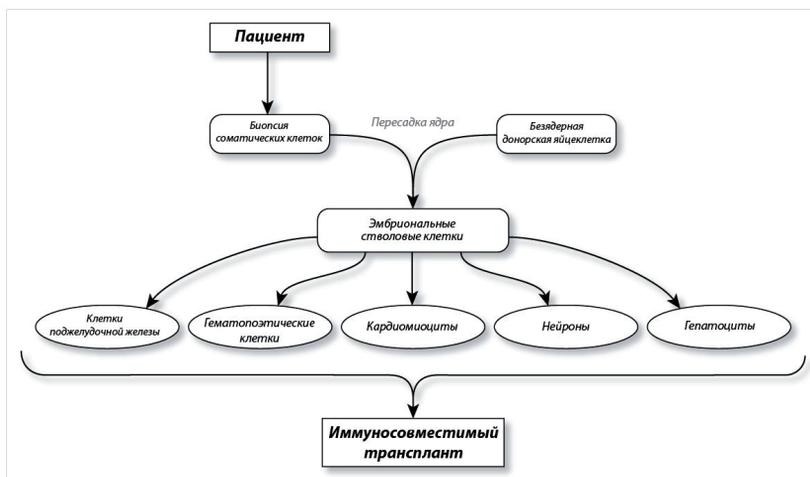


Рисунок 2. Схема ПЯСК (“терапевтического клонирования”).

ских клеток (ПЯСК). У пациента берут зрелую клетку тела (“соматическую”, т.е. не половую), например, делая мазок с внутренней стороны щеки, и переводят назад ее часы, устранив ограничения, наложенные дифференцировкой, т.е. фактически превращая ее в специфичную для пациента ЭСК.

Такое биологическое чудо совершается невероятно простым способом. Из донорской яйцеклетки удаляют ядро (эту называются энуклеацией) и заменяют его ядром соматической клетки пациента. Биохимическая обработка или электростимуляция обеспечивает объединение разнородных структур, после чего яйцеклетка начинает делиться, как после обычного оплодотворения, давая множество ЭСК, несущих только гены будущего реципиента, а значит, идеально совместимых с его тканями (см. Рисунок 2). Такие клетки можно использовать, как и любые другие ЭСК, но уже без всякого риска отторжения.

Возможно, вы уже слышали об этой революционной биомедицинской методике: ее растиражированное СМИ более популярное название – *терапевтическое клонирование*. С научной точки зрения такой термин безупречен, однако он породил невероятную путаницу относительно природы и целей ПЯСК, подлив напалма в огонь, и без того пылавший в юридических дебатах и на интернетовских форумах, посвященных стволовым клеткам. Сейчас я попробую остудить разгоревшиеся страсти.

Для ученого слово “клон” означает просто набор генов, клеток или организмов, идентичных по строению ДНК, поскольку они происходят от одного предка. Мы уже использовали его в этом смысле, говоря о “клональной

экспансии” Т-лимфоцитов, а также “моноклональных антител”, применяемых сейчас для лечения некоторых типов рака и, вероятно, полезных для биоинженерного противодействия старению. Аналогичный смысл вкладывают ученые в слово “клон” применительно к бактериям, в которые встроены ген, превращающий их в микробиологические фабрики по производству инсулина для диабетиков, и даже садоводы, обсуждающие различные клоны земляники, полученные путем ее вегетативного размножения (укореняющимися “детками”).

Однако даже у высокообразованного человека, слабо разбирающегося в биологии и биомедицине, понятие “клон” обычно ассоциируется с армией неотличимых друг от друга зомби, беспрекословно подчиняющихся приказам технократам или созданных для иных, еще более зловещих целей. Очевидно, такая путаница сильно снижает ценность дебатов вокруг потенциально спасительной для многих больных методики ПЯСК. Характерный пример – речь, произнесенная в Канадском парламенте 27 февраля 2003 в ходе дискуссии по поводу законов, регулирующих исследования стволовых клеток, мистером Джеймсом Ланни, членом консервативной партии, депутатом от округа Нанаймо-Алберни на острове Ванкувер. Он начал так: “Если бы мы взяли одну из клеток спикера, извлекли бы ее ядро и поместили его в яйцеклетку, можно было электрически стимулировать ее развитие”. Пока все правильно. Но затем мистер Ланни нарисовал фантастическую и, увы, слишком распространенную среди неспециалистов картину: “Получился бы так называемый терапевтический клон – незрелая модель мистера спикера, из которой можно было бы при желании извлечь орган, убив в ходе этого сам клон. Вот что такое перенос ядер соматических клеток, или терапевтическое клонирование”. Похожие глупости звучали в стенах Конгресса США и во многих других местах, где вспыхивали дебаты по поводу стволовых клеток.

Метод ПЯСК вообще не предназначен для клонирования людей. Его задача – производство бластоцисты, микроскопического клеточного шарика, еще не решившего, будет он одним человеком или несколькими близнецами. Верно, из такой бластоцисты можно *в принципе* получить младенца, если имплантировать ее в матку, как поступают при ЭКО, но это лишь возможность, а не реальность. В случае терапевтического клонирования не происходит оплодотворения яйцеклетки сперматозоидом, не возникает нового уникального набора генов, нет ни имплантации эмбриона, ни беременности. Биомедицинский ПЯСК создает новые ЭСК, а не организмы и даже не органы, которые можно было бы извлечь для пересадки. Этим способом не получают ни мозгов, ни даже зачатков нейронов. Разборка на ЭСК для лечебных целей образовавшейся в результате ПЯСК бластоцисты не бо-

лее жестокое “убийство”, чем выбрасывание в конце эксперимента культуры размножающихся клеток кожи. Как уже говорилось, ПЯСК всего лишь позволяет лечить людей *их собственными клетками*, эмбриональный потенциал которых восстановлен с помощью особым образом стимулированной яйцеклетки. Поскольку полученные при ПЯСК ЭСК несут те же гены, что и их будущий реципиент, они признаются за “своих” его иммунной системой, полностью совместимы с его тканями³⁴. К чему бы ни привели в дальнейшем результаты исследований ЭСК из лишних ЭКО-эмбрионов, ПЯСК практически гарантирует пациентам отсутствие отторжения, гомологичной болезни и проблем, связанных с пожизненным применением токсичных иммуносупрессоров.

Перспективы регенеративных возможностей получаемых путем ПЯСК ЭСК уже продемонстрированы в предварительных доклинических исследованиях. У подопытных животных этот метод с успехом использован для лечения многих тяжелых патологий, с которыми пока плохо справляется традиционная медицина, в том числе паркинсонизма³⁵, инфаркта миокарда³⁶ и эквивалента синдрома “кюветного младенца” (тяжелого комбинированного иммунодефицита), причем в последнем случае удавалось спасти не только отъемышей, но и полностью развитых взрослых особей, всю жизнь страдавших этим заболеванием³⁷. Как уже говорилось, аналогичные чудеса способны творить и ЭСК из бластоцист, полученных более натуральным способом, однако, по некоторым данным, даже если и они не вызывают отторжения, ПЯСК все-таки дает кое-какие преимущества. В самом деле, накопленные на сегодняшний день результаты *недораскрывают* весь терапевтический потенциал этого метода, поскольку в проведенных экспериментах ученые использовали не клетки, полученные индивидуально от каждого животного-реципиента (для достижения идеальной совместимости, желательной при лечении человека), а одну клеточную линию для лечения целой колонии близкородственных особей.

Например, при изучении паркинсонизма исследователи заставляли созданные путем ПЯСК клетки дифференцироваться в нейроны, соответствующие разным участкам центральной нервной системы (передний, средний, задний, спинной мозг) и отвечающим за широкий спектр функций. Некоторые из них относились к типу, вырабатывающему нейромедиатор *дофамин*, необходимый, как уже говорилось, для тонкого контроля движений. Другие используют в мозгу главным образом другой нейромедиатор, *ацетилхолин*, и их отмирание характерно для болезни Альцгеймера. Удалось также получить клетки, секретирующие такие мозговые нейромедиаторы, как *серотонин* и *гамма-аминомасляная кислота*; проводящие двигательные сигналы от спинного мозга к мышцам (дегенерация этих клеток вызывает мото-

нейронные болезни); глиальные клетки, служащие “опорой” для нейронов и необходимые для их защиты и питания. Одним словом, диапазон успешно дифференцировавшихся зрелых клеточных производных был намного шире, чем в более ранних работах с применением обычных ЭСК.

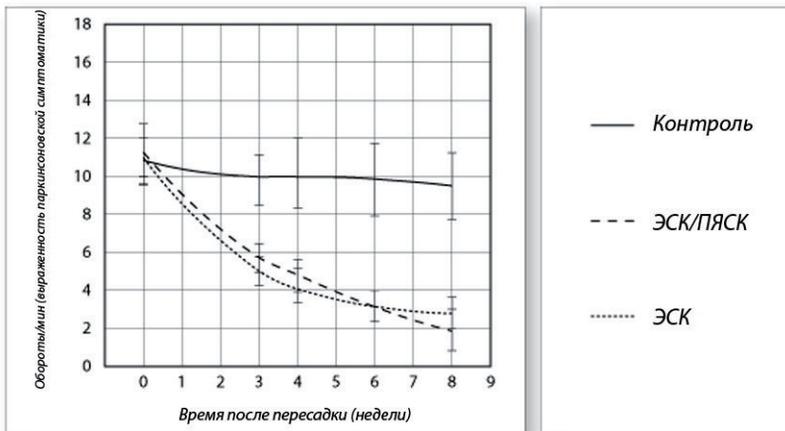
Затем эти клетки протестировали на грызунах с паркинсонизмом (более двух третей их вырабатывающих дофамин нейронов было уничтожено токсином) и сравнили их эффект с результатами использования ЭСК, полученных обычным способом. Дифференцировавшиеся в обоих случаях нейроны давали стабильные трансплантаты, улучшали двигательную активность животных и не вызывали реакции отторжения. Однако, хотя использованные для ПЯСК клетки были получены не от самих реципиентов, а от их родственников, они оказались эффективнее обычных ЭСК. В мозгу возникали более крупные “заплаты” с *вдвое* большим количеством выживавших через восемь недель после пересадки новых нейронов, так что в конечном итоге общее число дофамин-продуцирующих нервных клеток в местах трансплантации возрастало на 50%.

Похоже, метод ПЯСК оказался эффективнее и в смысле функционального улучшения. Поскольку в эксперименте поражалась только одна сторона головного мозга, химическая стимуляция оставшихся дофамин-продуцирующих клеток вызвала двигательный дисбаланс. Нервные сигналы шли главным образом к ногам с одной стороны тела животного, в результате чего оно начинало вертеться на месте, как, скажем, тележка для покупок, у которой заело только одно колесо. Выраженность такого “вращательного поведения” использовалась как один из ключевых показателей функции пораженной – и восстанавливаемой – части мозга. Лечение и обычными ЭСК, и ЭСК, полученными путем ПСЯК, ослабляли эту аномалию более чем на 70%, но во втором случае результаты были немного лучше (см. **Рисунок 3**).

Исходя из широкого разнообразия полученных их методами нервных и глиальных клеток, ученые, проводившие данное исследование, считают, что использованный ими подход можно применять также для лечения рассеянного склероза и других демиелинизирующих расстройств (когда повреждается необходимая для нормальной работы нейронов миелиновая оболочка), хорею Гентингтона, боковой амиотрофический склероз и другие мотонейронные болезни.

На пути к клиническому внедрению ПЯСК еще остаются технические сложности, однако теоретические сомнения относительно его медицинской применимости постепенно исчезают. Например, были вопросы по поводу митохондрий в создаваемых таким способом клетках. Энуклеированная яйцеклетка получает ядерную ДНК пациента, но сохраняет свои соб-

Стимул 1



Стимул 2

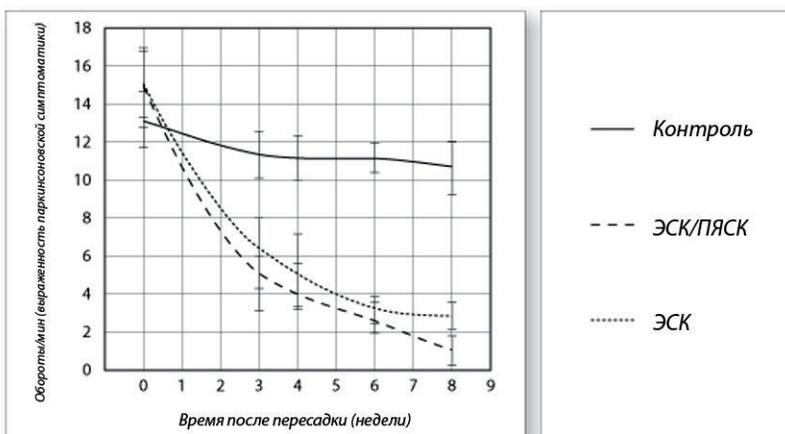


Рисунок 3. Восстановление с помощью ЭСК, в том числе полученных методом ПЯСК, двигательной функции у модельных животных с паркинсонизмом.

ственные “энергетические станции”. Многие ученые высказывали опасения, что такой “гибрид” будет либо обречен на дисфункцию из-за несовместимости с ним исходных митохондрий (производных ядерных генов донорской яйцеклетки и ее митохондриальной ДНК), либо станет отторгаться реципиентом из-за иммунного ответа на эти чужеродные органеллы. Од-

нако до сих пор эта митохондриальная нестыковка, похоже, ничему не мешала. Помимо того, что гибридные клетки успешно приживались в теле животных-реципиентов без каких-либо признаков отторжения, очень тонкое исследование разнообразных специфических белков, используемых для выявления митохондриальной “чужеродности”, показало: трансплантаты воспринимаются организмом как “свои” по всем доступным параметрам.

Высказывались также опасения по поводу эпигенетики получаемых при ПЯСК клеток: якобы “леса”, окружающие ядерные гены и регулирующие их экспрессию, будут аномальными, а это чревато дисфункцией или злокачественным перерождением. Однако, хотя такая проблема и наблюдалась при использовании выращенных с помощью ПЯСК эмбрионов для клонирования животных, похоже, она не возникает при использовании полученных этим методом *стволовых клеток* в лечебных целях. В самом деле, в начале 2006 ученые из Уайтхедского института биомедицинских исследований в Кембридже (Массачусетс) сообщили, что транскрипция и трансляция в ЭСК, созданных путем ПЯСК и возникающих при ЭКО, идут практически *идентично*: любые наблюдаемые расхождения связаны с генетическими различиями животных-доноров, а не с происхождением клеток³⁸. Более того, по-видимому, сам процесс выделения ЭСК из полученных при ПЯСК blastocист подразумевает своего рода “выживание наиболее приспособленных”: эпигенетически неадекватные клетки гибнут из-за собственной дисфункциональности. Вероятно, это в значительной мере объясняет, почему так трудно получить богатый “урожай” таких ЭСК из каждой отдельной blastocисты. Серьезные проблемы могут возникнуть у того, кто собирается использовать ПЯСК для клонирования человека (опасающиеся такого поворота событий должны вздохнуть с облегчением), однако, судя по всему, эпигенетические моменты, хотя и затрудняют медицинское применение ПЯСК, отнюдь не исключают его эффективности и безопасности.

Еще один вопрос: где брать яйцеклетки для широкого внедрения ПЯСК в противозрастную терапию? Их резерв ограничен количеством женщин, готовых сдавать такого рода биоматериал, а необходимые для его изъятия гормональные обработки и умеренно инвазивное хирургическое вмешательство скорее всего, будут сдерживать рост числа добровольцев. Многие говорят о неэтичности финансовой или иной стимуляции подобного донорства, особенно учитывая его не до конца гарантированную безопасность.

Однако и эту препону можно преодолеть чисто техническими средствами. Один из вариантов – использование яйцеклеток животных. Конечно, это создаст дополнительные опять же *технические* трудности: в частности, митохондрии не просто другого *индивида*, а другого *вида* могли бы привести к утрате ЭСК стабильного энергоснабжения. Недавно, опираясь на соб-

ственный опыт работы с этими органеллами, я предложил решение данной проблемы – если она вообще возникнет³⁹. Можно ввести в яйцеклетку не только ядро, но и митохондрии реципиента, а в результате избежать их потенциальной межвидовой несовместимости.

Альтернативный путь – массовое биоинженерное производство яйцеклеток из более распространенных человеческих клеток, например эпидермальных. Канадские исследователи недавно сообщили⁴⁰ о получении ими из клеток кожи свиного плода других клеток, которые по своей структуре, особенностям генной экспрессии и некоторым функциональным признакам очень напоминают яйцеклетки. Достаточно ли полно такое соответствие, еще не вполне ясно, но они – или их более совершенные версии – вполне могут обладать такой же, как у обычных яйцеклеток, способностью “переводить назад часы” зрелых соматических клеток. Это означало бы доступность почти неограниченного резерва искусственных яйцеклеток: в 1 квадратном дюйме (2,5 × 2,5 см) кожи человеческого плода содержится 19 млрд. их “заготовок”. Такое изобилие позволило бы нам избежать даже этических дебатов: достаточно было бы просто получать у родителей согласие на использование тканей мертворожденных младенцев, а не абортированных эмбрионов.

☞ Замороженные эмбрионы – замороженная наука

Это возвращает меня к воспоминаниям о моей второй конференции по SENS. В те времена воздух еще пах озоном от поры научных молний, которые метнула прежде никому не известная группа корейских ученых из Сеульского национального университета, которую возглавлял ветеринар Хванг Ву Сук. Через несколько лет после появления овечки Долли он заявил, что клонировал корову, а потом и собаку, но настоящая слава пришла к нему зимой 2004, когда Хванг сообщил о получении им – впервые в истории – полноценных человеческих ЭСТ методом ПЯСК. Естественно, о корейском ученом заговорили во всем мире, но это оказалось только началом. Менее чем через год, в последние месяцы подготовки SENS-2, он заявил о существенном усовершенствовании своей методики. В первом случае Хвангу, используя 242 яйцеклетки, удалось получить всего одну стволовую линию, причем она содержала ядро соматической клетки того же самого донора, т.е. ее биомедицинская польза была весьма ограниченной. Теперь же он говорил, что создал 11 человеческих линий, затратив всего 185 яйцеклеток и вводя в них ДНК совершенно других людей обоих полов и разных возрастных групп, включая потенциальных пациентов.

Все специалисты в этой области, не говоря уже о популярной прессе, приветствовали такие результаты, называли их феноменальным шагом вперед, и я был далеко не единственным, кто видел их колоссальный потенциал в смысле лечения не только возрастных патологий, но и в целом возрастной деградации организма. Я понимал: надо, чтобы кто-нибудь сделал доклад не только о самих результатах Хванга (более или менее известных – благодаря шумихе в прессе – большинству участников конференции), но и об их важности для борьбы со старением.

В самом деле, эти результаты могли бы стать сильнейшим гальванизирующим стимулом, которого так не хватало исследованиям стволовых клеток. Из-за сложившегося к тому времени политического климата эффект от корейского заявления был намного сильнее, чем объяснялось бы его чисто технической сенсационностью (я ничуть ее не умаляю), т.е. появившейся, наконец, возможностью производить “на заказ” стволовые клетки для терапевтических целей. Печально знаменитое решение президента Джорджа Буша, принятое им летом 2001, загнало в угол изучение этих клеток, ограничив его федеральное финансирование средствами, выделяемыми на работы с линиями, созданными к тому дню, когда он подписал соответствующую бумагу.

Решение Буша перечеркнуло утвержденную администрацией Клинтона, но так и не воплощенную в жизнь политику, предусматривавшую направление средств Национального института здравоохранения (НИЗ) на исследование ЭСК с использованием линий, получаемых как из клиник ЭКО, так и в ходе работ, начатых на средства частных фондов. Новый президент ориентировался не на мнение ученых, а на шумиху вокруг абортот и свойственное ему самому как убежденному христианину и консерватору их категорическое неприятие. И хотя его решение не было, строго говоря, “запретом” на изучение ЭСК, над всей этой областью повеяло могильным холодом – и не только потому, что сокращение фондов касалось работ почти со всеми доступными их линиями.

Самой очевидной проблемой было удушение прямого федерального финансирования исследований. Администрация выделила на одну из важнейших областей американской и даже мировой фундаментальной науки всего 20 млн. долларов, поступающих ежегодно исключительно из бюджета НИЗ. Буш и его союзники могли бы утверждать, что этого для изучения ЭСК более чем достаточно, поскольку уже существует достаточное количество их проверенных линий, однако фактическое состояние данного материала политиками не учитывалось.

Согласно исходному заявлению Белого Дома, его новая политика позволяет ученым исследовать целых 78 стойких линий стволовых клеток, но когда сена-

торы уточнили названные цифры у директора НИЗ Илайеса Зерхуни, он признался: всего 19 из них действительно жизнеспособны, практически доступны (свободны от ограничений, накладываемых, например, правами на интеллектуальную собственность) и готовы к использованию. К 2004 накопилось не более 21 такой линии. По предварительным данным, представленным Национальной академии наук 12 октября 2004, среди линий, протестированных Кэррол Уэр из Вашингтонского университета, 12 заметно ухудшили свой рост и с трудом поддавались сепарации из-за устаревшего метода их получения и культивирования. Одну из них пришлось из-за этого забраковать полностью⁴¹.

Важный момент: всего два десятка линий не являются репрезентативной выборкой для генетического разнообразия человечества. Иными словами, трудно проверить, не является ли то или иное обнаруженное свойство лишь особенностью конкретной линии или, скажем, людей одной расы. Для нормального прогресса в данной области науки необходимы как минимум сотни жизнеспособных линий ЭСК. На самом же деле, ситуация еще плачевнее, поскольку из-за своего солидного возраста доступные для изучения линии накапливают мутации, которые способны исказить экспериментальные результаты, т.е. уже не соответствуют даже стволовым клеткам исходных доноров. Далее, мы не можем изучать ЭСК людей с конкретными болезнями (включая действие на патологические процессы разрабатываемых лекарств). Такие исследования удобнее всего проводить методом ПЯСК – беря у пациентов зрелые клетки и превращая их в бластоцисты. Затем можно было бы следить за дифференцировкой ЭСК в клетки, наиболее поражаемые данной патологией, и за изменениями, происходящими при наложении их аномального метаболизма на возрастные процессы, свойственные даже здоровым людям.

Доступные сейчас ЭСК плохи не только своей ограниченной применимостью для фундаментальных исследований. Каждый работающий в этой области сознает: их никогда не удастся использовать и в терапевтических целях. Все доступные линии бесполезны клинически, поскольку изначально культивировались с помощью мышинных *питающих клеток*, секретирующих различные факторы и обеспечивающих структурную опору, необходимую для сохранения примитивного неспециализированного состояния ЭСК. Контакт с клетками грызунов различными путями “запачкал” человеческий биоматериал. В одном исследовании⁴² на поверхности ЭСК обнаружили сахар, распознаваемый как “чужеродный” и атакуемый нашей иммунной системой. Считается (хотя пока и не доказано), что культивируемые клетки могут содержать также мышинные белки и даже вирусы.

Только в последнюю пару лет ученые разработали новые методики, впервые позволившие разводить человеческие линии ЭСК с использованием *человеческих же* питающих клеток, а затем и вообще без их помощи⁴³. Одна-

ко опять же, если эти ЭСК не изготовлены специально для пациента путем ПЯСК, остается возможность возникновения проблем с отторжением. Таким образом, для эффективного использования в медицине, а в будущем и для противозрастной терапии в целом пригодны только линии ЭСК, полученные гораздо позже 2001.

Политика Буша отразилась и на специалистах, довольно далеких от лабораторий, где занимаются оставшимися в распоряжении ученых клеточными линиями. В частности, запрет на финансирование работ с неутвержденными ЭСК контролируется настолько агрессивно, что НИЗ пришлось отменить гранты, выделяемые даже на *никак не связанные* с ЭСК исследования, если эти деньги идут на материалы и оборудование, применяемые также для изучения “запрещенных” ЭСК. Вы, скажем, тестируете раковые клетки на крысах, но вас лишают средств, если кто-нибудь в вашем университете, пользуясь, скажем, теми же наборами для анализа геной экспрессии, работает с ЭСК, полученными после августа 2001. Это крайне затрудняет исследование таких ЭСК в большинстве ВУЗов и во всех федеральных научных центрах. Лаборатории же, в которых ведутся вполне санкционированные работы, должны тратиться на дублирование и отслеживание своего оборудования – вплоть до использования цветных меток на чашках Петри и прочей стеклянной посуде, что, разумеется, не способствует эффективной научной деятельности.

Политика Буша сильно затрудняет даже исследования, финансируемые из частных источников, т.е. те, которых она теоретически не касается. Ученые, работающие на производственных фирмах, сначала получают образование в университетах. Если там изучение ЭСК стопорится из-за недостатка федеральных денег и конкуренции с другими группами, нуждающимися в том же самом “неделимом” по закону оборудовании, молодые специалисты попросту не получают должных навыков обращения с ЭСК, не говоря уже о возможности проводить с ними собственные эксперименты, способствующие научному прогрессу. Результат – нехватка таких кадров в частных фирмах, готовых выделять на работы с ЭСК необходимые средства.

Естественно, такое положение вещей отпугивает потенциальных инвесторов: слишком неопределенным выглядит положение компаний, которые всерьез заняты разработкой стволовых клеточных технологий, в том числе и лечебных. Одно время даже казалось, что США, последовав примеру некоторых других стран, объявят некоторые аспекты таких исследований, например использование ПЯСК, не только недостойными государственного финансирования, но и попросту криминальными. Инвесторы готовы рисковать многим, но только не собственной репутацией, и от поддержки частных работ с ЭСК предпочитают воздерживаться.

На короткое время вспыхнула была надежда, что администрация Буша быстро откажется от своей политики под нажимом общественного мнения. В самом деле, опросы даже очень консервативных групп населения демонстрируют: большинство граждан США (да и других стран) высказывается в пользу беспрепятственного изучения ЭСК. Очевидно, многие респонденты слабо представляют себе потенциальную пользу этих работ для человеческого здоровья: они просто считают, что специалисты вполне могут брать для своих исследований лишние эмбрионы, без толку хранящиеся в ЭКО-клиниках⁴⁴. Если же разъяснять людям медицинские перспективы этих исследований, их общественная поддержка достигает порядка 70%. Причем большинство респондентов поддерживает даже применение ПЯСК. Это позволяет мне с оптимизмом размышлять и о будущем отношении народа к противозрастной терапии в целом.

Итак, в жаркие августовские деньки, когда противоречия на глазах обострялись, а популярность президента Буша была далеко не стабильной, казалось весьма вероятным, что общественное мнение заставит его отменить свое близорукое решение и ученые довольно скоро получат для работы с ЭСК необходимые федеральные средства.

А потом в Центр международной торговли врезались самолеты.

За месяц все изменилось. Если в августе судьба исследований ЭСК интересовала всех и каждого, к концу 2001 эта проблема почти всеми полностью забылась, вытесненная ужасом перед террористами. Когда давление широкой общественности испарилось, требовать чего-либо по поводу ЭСК от законодателей продолжали лишь те, чьи организации, ресурсы и идеологическая подпитка остались достаточно заметными даже на фоне руин нью-йоркских небоскребов. В такой ситуации смешивание чисто научных вопросов со спорами вокруг абортов привело к полной победе *противников* ЭСК-технологий. Хорошо организованные и обильно финансируемые антиабортивные группы беспрецедентно усилили свое влияние, лишившись бывшего противодействия со стороны как широкой общественности, так и своих привычных оппонентов. Действительно, объединения, выступавшие за гражданские права и свободу выбора, и прежде не особо интересовались собственно стволовыми клетками, а теперь были по горло заняты отстаиванием Конституции в условиях закручивания гаек, которого якобы требовала борьба с мировым терроризмом. Конечно, за продолжение исследований ЭСК могли бы выступить группы поддержки пациентов, однако в то время они только зарождались и не пользовались поддержкой фармацевтических компаний, еще не успевших вложить средств в соответствующие разработки. Сплотившийся вокруг ставшего необыкновенно популярным президента-главнокомандующего, заваленный дезинформацией, без-

отказно поставляемой противниками абортотв и право-религиозными активистами, всегда составлявшими электоральную базу Буша (и много сделавшими для усиления его власти), Конгресс со своим республиканским большинством и доминированием консервативных по мировоззрению депутатов повел настоящую атаку на стволовые клетки. Законопроекты, параллельно представленные сенату Сэмом Браунбэком (S245) и палате представителей Дэйвом Уэлдоном и Бартом Ступаком (HR234), требовали запрета любых форм “человеческого клонирования”, включая использование ПЯСК в исключительно научных или медицинских целях.

Их принятие означало бы не только отказ от федерального финансирования создания бластоцист путем ПЯСК, но и объявление этой процедуры *преступной*, подразумевающей лишение свободы для тех, кто ею занимается. Тюрьма грозила бы и ученым, проводящим любые исследования линий ЭСК, полученных с помощью ПЯСК. Более того, оригинальные тексты этих законопроектов предусматривали реальные сроки даже для врачей и пациентов, предлагающих лечение продуктами ПСЯК, соответственно, дающих на него согласие. Раздавались голоса, предлагающие наказывать и граждан США, получающих такую терапию за границей, – по возвращении, разумеется.

К счастью, через несколько месяцев общественность постепенно начала отходить от шока, и активисты, отстаивающие права ученых и пациентов, перешли в контрнаступление. Большую роль при этом сыграло мнение заметных людей, кто надеялся на помощь связанного с ПЯСК лечения им самим или их близким. Речь идет, в частности, о Майкле Дж. Фоксе (паркинсонизм), Кевине Кляйне (юношеский диабет у сына), Кристофере Риве (травма спинного мозга), и – прежде всего, Нэнси Рейган (чей супруг, экс-президент, умер от болезни Альцгеймера). Стала формироваться двухпартийная коалиция, выступающая за расширение доступа к ЭСК, а во многих случаях и за полную легализацию биомедицинского применения ПЯСК. Показательно, что в нее вошли такие видные противники абортотв из числа республиканцев, как Оррин Хатч, Стром Термонд, Арлен Спектер, Джон Маккейн и даже лидер сенатского большинства Билл Фрис. Похоже, их мнение разделял Томми Томпсон, министр здравоохранения и социальных служб в администрации Буша. Тем временем влиятельные научные организации (включая Национальную академию наук, Американскую медицинскую ассоциацию, Ассоциацию американских медицинских колледжей и даже сам Национальный институт здравоохранения) и многочисленные благотворительные фонды, связанные с конкретными заболеваниями (например Фонд исследований юношеского диабета, Американская ассоциация изучения рака, Фонд Ланса Армстронга и Американская диабетическая ассоциация) оказали финансовую поддержку работам с использованием новых линий ЭСК и метода ПЯСК.

Коалиция Хатча выступила с двумя законопроектами: во-первых, о легализации ПЯСК в фундаментальных и медицинских исследованиях при запрете на клонирование этим методом человека, а во-вторых, о доступности для специалистов скопившихся в ЭКО-клиниках излишков эмбрионов как источника стволовых клеток. К коалиции мало-помалу присоединялось все больше конгрессменов обеих партий. В течение нескольких лет парламентское противостояние ни к чему не приводило: оба законопроекта неоднократно вносились на рассмотрение и отклонялись. Однако такая боевая ничья в конечном итоге играла на руку их противникам. Хотя немногие ученые, занимавшиеся ПЯСК, оставались на свободе, их работы не финансировались, потенциальные частные инвесторы дожидались политической определенности, а президентское ограничение на исследования ЭСК оставалось в силе.

☞ Обманчивый рассвет

Внезапно в 2005 прозвучало сообщение Хванга о его сравнительно высокопродуктивном методе создания индивидуально спроектированных ЭСК. Эта новость сокрушительным тараном ударила по научным и политическим барьерам. С одной стороны, сама возможность получения жизнеспособных ЭСК для нужд конкретных пациентов была, действительно, революционной. С другой стороны, она добавила “пронаучным” политическим силам не только энтузиазма, но и весомых аргументов. Странники свободного изучения ЭСК давно предупреждали, что, если правительство будет и впредь ему препятствовать, лидирующее положение в данной области займут другие страны. Это будет грозить США утечкой мозгов: американские ученые устремятся за границу, чтобы заниматься любимой работой в более благоприятном для нее политическом климате, а зарубежные аспиранты (и без того раздраженные усилением мер безопасности) станут отклонять предложения американских университетов. Это пророчество начало сбываться. Корейское правительство обещало своей сверхновой научной звезде внушительную финансовую поддержку; такие разные страны, как Великобритания, Сингапур, Швеция и Израиль, стали создавать собственные, хорошо обеспеченные центры по исследованию ЭСК; в СМИ появились сообщения об уже пакующих свои чемоданы видных американских ученых.

Конкурентная борьба, как всегда, оказалась могучим стимулом прогресса. Отдельные штаты США, опасаясь национального отставания в любой области, стали издавать законы о финансировании изучения ЭСК на собственной территории. Федеральные политики, не относящиеся к твердокаменным идеологическим противникам ЭСК, в том числе многие ориенти-

рованные на свободный рынок республиканцы, начали ставить под вопрос официальную “антинаучную” идеологию. Еще за пару лет до этого 58 сенаторов – в основном демократы, но при весомой поддержке некоторых видных республиканцев – подписали письмо, в котором просили Буша отменить его печально известное решение. Через месяц с небольшим после заявления Хванга к ним присоединилось 206 членов палаты представителей.

Я понимал, что широкое освещение этих подвижек и возможностей, открываемых ими для научного сообщества, существенно способствовало бы достижению цели моей конференции – глобальному стимулированию биомедицинских противозрастных исследований. Если не считать самого Хванга, лучшим докладчиком по данному вопросу был Джералд Шаттен, занимавшийся стволовыми клетками в Питтсбургском университете. Два последних года он работал с Хвангом, использовал его ветеринарные методики для клонирования обезьяны и подписался вместе с ним под статьей в журнале “Сайенс”, сообщающей о создании путем ПЯСК новых линий ЭСК. Я попросил его рассказать о собственных результатах, а заодно и об общих принципах производства пациент-специфичных ЭСК группой Хванга в Сеульском университете – “Всемирном инкубаторе стволовых клеток”, готовом производить их на заказ путем ПЯСК с использованием созданного Хвангом оборудования и опытного технического персонала.

К моему восторгу Шаттен принял приглашение – однако я буквально запел от радости, когда вскоре получил от него еще одно электронное письмо, сообщавшее, что он хотел бы прибыть вместе с другом. Сам Хванг изъявил желание поприсутствовать на SENS-2 и по возможности выступить там с кратким сообщением. Шаттен спрашивал, нельзя ли предоставить часть выделенного ему получасового отрезка конференции для выступления корейца. Естественно, я предложил Хвангу сделать полный получасовой доклад на сессии, посвященной стволовым клеткам и регенеративной медицине. Ради этого я готов был изменить всю программу конференции и начать ее подготовку с нуля, вымаливая у многочисленных участников прощение за перетасовку на такой поздней стадии уже составленной очень плотной программы. К счастью, этого делать не пришлось, поскольку вскоре один из приглашенных заявил о своей невозможности приехать. Доклад Хванга был утвержден почти без всяких перестановок.

И вот настал знаменательный миг: к моему огромному удовольствию Хванг появился перед горящими неподдельным интересом глазами сотен своих коллег на лекторской трибуне конференц-зала имени Фицпатрика в Кембридже.

Если только вы не провели зиму 2005-2006 в какой-нибудь непальской пещере, вам наверняка известно, что корейские данные оказались пустыш-

кой. Через считанные месяцы после фурора, произведенного на моей сентябрьской конференции, Хванг был признан мошенником.

☞ Плохие чародеи и плохие люди

Сначала возникли этические сомнения по поводу источников использованных корейцем яйцеклеток; потом относительно жизнеспособности четырех из 11 клеточных линий, описанных им в журнале “Сайенс”. Потом специалисты, глядясь в опубликованные Хвангом фотографии, стали замечать подозрительное сходство между якобы уникальными линиями створчатых клеток. Хванг заявил, что это результат путаницы, допущенной сотрудниками журнала, выбиравшими иллюстративный материал к статье из множества предоставленных им снимков.

Наступление на Хванга быстро набирало силу. Пересматривая его данные, ученые заметили подозрительное сходство между генетическими профилями различных клеточных линий. Потом Шаттен потребовал задним числом убрать свое имя из списка авторов нашедшей статьи в связи с “утверждениями ряда участников экспериментов о возможной фальсификации некоторых элементов сообщения”. Наконец, 15 декабря один из этих сотрудников выступил с открытым заявлением: *девять* из 11 линий Хванга – откровенная подтасовка, поскольку ДНК у них *идентична*. Более того, по его словам, Хванг сам признавался ему в этом мошенничестве.

В ответ на каждое высказываемое сомнение Хванг “уходил в неознанку”, оправдываясь чужими ошибками, загрязнением материала и некомпетентностью оппонентов. Он дошел до того, что обвинил одного из своих бывших сотрудников в умышленной “подмене” некоторых клеточных линий. Однако через восемь дней после упомянутых выше скандальных заявлений этого самого человека экс-герой подал заявление об увольнении из Сеульского национального университета по собственному желанию. Ему было отказано в связи с уже начавшимся международным расследованием. Хванга отстранили от работы в феврале, уволили в марте, а в мае судили за мошенничество, растрату казенных средств и нарушение биоэтического законодательства.

Падение кумира наделало много шума. Естественно, весь ученый мир был возмущен бессовестным обманом и глубоко разочарован крушением радужных надежд, связываемых с исследованиями корейца. Кроме того, речь шла о политическом фиаско, которым тут же воспользовались противники изучения ЭСК, развернувшие кампанию клеветы против всех работающих с ними специалистов.

Но самое худшее – обман Хванга затормозил прогресс во всей этой области как минимум на год – вечность для современной науки. Ограничения,

наложенные Бушем на исследования ЭСК и подкрепленные раздающимися из Конгресса США угрозами объявить ПЯСК вне закона, привели к тому, что совершенствованием этой методики и ее терапевтической адаптацией продолжало всего несколько групп американских ученых. Суд над Хвангом отпугнул и потенциальных инвесторов: никто не хотел еще раз изобретать велосипед, уже прокатившийся по Корее, и работу частных фирм перестала стимулировать конкуренция с создателями первых пациент-специфичных ЭСК, казалось, уже собиравшихся запатентовать свои уникальные методы.

Характерный пример. Одна из таких компаний, “Адвансед селл технолджи” (“АСТ”), уже не один год мужественно продолжала разработки в этой области, производя большие количества ЭСК и усиленно экспериментируя с ПЯСК (хотя многие ее достижения, похоже, преувеличены журналистами). Ее не останавливали даже бесконечные финансовые кризисы, порождаемые строптивостью инвесторов, вполне понятной, учитывая юридический климат той эпохи. В конце 2001 “АСТ” во весь голос заявила о первом “клонировании” человеческой бластоцисты,⁴⁵ хотя перенесла в яйцеклетку донора её же соматическое ядро (точнее говоря, ДНК одной из окружающих ее в норме клеток) и получила всего лишь шестиклеточный шарик. Два следующих года фирма посвятила главным образом совершенствованию своей методики, опубликовав множество статей (в основном на основе данных по коровьему материалу), посвященных объяснению причин низкого выхода производимых путем ПЯСК жизнеспособных бластоцист, и упорно стараясь адаптировать эту методику для биомедицинского использования на людях.

В конце 2003 “АСТ”, по утверждению ее научного директора Роберта Ланзы, вплотную подошла к решению всех технических проблем и собиралась приступить к производству жизнеспособных пациент-специфичных ЭСК и исследованию их пригодности для лечения конкретных патологий. Однако заявление Хванга о его 11 клеточных линиях заставило инвесторов резко сократить свои вложения в “аутсайдера” - удар, который усугубился потерей “АСТ” ее главного источника человеческих яйцеклеток. Этот материал подвергли глубокой заморозке, и работы фирмы по испытанию на нем ПЯСК прекратились.

Не менее печален случай профессора Алисон Мердок и доктора Миодрага Стойковича из “Центра жизни”, репродуктивной клиники и научного центра в Ньюкасл-апон-Тайне (Великобритания). Эти исследователи сумели получить путем ПЯСК первые человеческие бластоцисты с ДНК, взятой не от доноров яйцеклеток⁴⁶. Эти бластоцисты были, как и у “АСТ”, не вполне жизнеспособны, однако благодаря более благоприятному для таких работ британскому политическому климату группа добилась официального разрешения на дальнейшее изучение созданных путем ПЯСК ЭСК, т.е. со-

вершенствование своей методики. Однако первой появилась публикация об ошеломляющем успехе Хванга, на фоне которого создание всего трех начавших делиться, но еще не давших линий “рукотворных” клеток выглядело не заслуживающей внимания мелочью. В результате дальнейшие британские исследования были свернуты. Это решение, по словам Мердок, стоило их группе не менее года работы.

Такие же истории происходили и в других местах. Занимавшиеся ПЯСК группы в Швеции и даже в трех американских университетах, сумевших получить от частных фондов и штатов достаточно денег для организации независимых от федерального финансирования центров по изучению стволовых клеток, либо полностью прекратили свои работы, либо приостановили их, чтобы посмотреть, не окажутся ли их усилия излишней “мышьиной возней” рядом с будущими успехами корейцев

Тем не менее, хотя потрясая весь ученый мир канонада Хванга и оказалась на поверку лишь красивым фейерверком, она многих пробудила от спячки. Исследователи по всему миру и особенно в США начали всерьез размышлять над возможностями, которые мог бы дать им доступ к корейской методике. Она как будто позволяла получать плюрипотентные стволовые клетки, идеально подходящие пациентам с тяжелейшими возрастными патологиями – паркинсонизмом; последствиями инсульта; со слабым, покрытым рубцами сердцем; глазами, ослепшими из-за отмирания захлебнувшихся в собственных отходах светочувствительных клеток; конечностями, которые атрофируются, потому что электрические стимулы перестают проходить по нейронам или мышечным волокнам, постепенно разрушаемым неизбежной молекулярной деградацией. Лаборатории стали прикидывать будущие гранты. Студенты снова увидели в исследованиях стволовых клеток перспективы блестящей карьеры. Рассвет оказался обманом, но его лучи сумели пробудить дремлющие научные силы.

И сейчас, хотя карточный домик Хванга рухнул, а идеологически защищенная и морально дезориентированная администрация Буша продолжает чинить специалистам по ЭСК всяческие препятствия, эта область исследований переживает настоящее возрождение. Мердок и “АСТ” снова занялись своими программами. Группы ученых по всему миру работают над совершенствованием методик ПЯСК с прицелом на открываемые этой процедурой новые научные и медицинские возможности. Интереснейшие результаты уже получены в Центре регенеративной медицины Эдинбургского университета в Шотландии (где клинические исследования во многом основаны на подходе, приведшем в 1996 к созданию овечки Долли), в Карловском институте (Швеция), Втором шанхайском медицинском университете (Китай), а также в нескольких финансируемых частными источниками

центрах США, включая Гарвардский институт стволовых клеток, Калифорнийский университет в Сан-Франциско, Институт стволовоклеточной биологии и медицины Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе.

Юридический климат тоже меняется. После Китая, Великобритании и Швеции метод ПЯСК уже полностью легализовали Сингапур, Бельгия, Япония, Испания и Израиль. Он не преследуется законами и в США, несмотря на все усилия сенатора Браунбэка и его сторонников. Законопроект Браунбэка-Уэлдона дважды отвергался Конгрессом, хотя снова был внесен на его рассмотрение в 2005 под названием Акта о запрещении человеческого клонирования (S658/HR1357). Еще более впечатляет принятие обоими палатами с подачи Оррина Хатча двухпартийного Акта о расширении исследований стволовых клеток, который не вступил в силу только из-за президентского вето – первого за шесть лет правления мистера Буша. На подходе еще один законопроект Хатча – о развитии ПЯСК, хотя сроки голосования по нему еще не назначены.

Тем временем не дремлют и отдельные штаты США, прилагающие все усилия для преодоления финансовых и юридических препон, созданных федеральным законодательством. Работы с ПЯСК легализованы в Калифорнии, Коннектикуте, Нью-Джерси, Род-Айленде, Иллинойсе и Массачусетсе, и хотя несколько штатов особо запретили эти исследования, многие другие разрешают ученым использовать излишек полученных при ЭКО blastocysts. В ноябре 2006 в Миссури чуть было не состоялся сбор подписей в пользу законодательной защиты права специалистов изучать ЭСК и ПЯСК, а пациентов – пользоваться основанной на этих методиках терапией, применяемой в других местах США.

Кроме того, штаты занимаются сбором средств, необходимых для развития собственных биотехнологических секторов. Наиболее известно в этом смысле Предложение-71 – сбор подписей в Калифорнии, приведший к созданию Калифорнийского института регенеративной медицины с акционерным фондом 3 млн. долларов для финансирования работ с ЭСК вообще и ПЯСК в частности. Реальное использование этих средств пока тормозится “антинаучными” судебными исками и вполне оправданными вопросами, касающимися контроля за расходованием денег и некоторых этических моментов, однако общая юридическая атмосфера в штате благоприятна, и губернатор Арнольд Шварценеггер недавно выделил Институту заем, позволивший, наконец, направить собранные доллары на разработку стволовоклеточной терапии.

Хотя пример Калифорнии наиболее известен, он далеко не единственный и даже не первый. Зачинателем этого движения выступил штат Нью-Джерси, еще в 2004 начавший создание собственного фонда для финанси-

рования исследований ЭСК. С декабря 2005 там выделено в общей сложности 5 млн. долларов на гранты 17 институтам, изучающим стволовые клетки из эмбрионов и других источников, а также 23 млн. долларов на создание Нью-Джерсийского института стволовых клеток. Аналогичная работа началась в Коннектикуте, Иллинойсе, Мэриленде, Массачусетсе (несмотря на провалившуюся попытку губернатора наложить на сбор средств вето) и Вашингтоне.

Тем временем, несмотря на отсутствие поддержки, враждебное законодательство и сохраняющаяся неопределенность, отпугивающие многих инвесторов, зашевелился и частный сектор. Один из самых ярких примеров тут – фирма “АСТ”. Заслуживает упоминания и “Джерон корпорейшен”, биотехнологическая компания, знаменитая своими работами по “ферменту молодости” (теломеразе) и сейчас ищущая способы его *отключения* для подавления ракового роста (подробнее об этом в гл.12). Эта фирма усовершенствовала методы разведения человеческих ЭСК без питающих клеток и испытывает на животных шесть их различных линий. Знаменательно, что уже весной 2007 она собиралась начать первые испытания на людях таких “зачатков” нейронов для лечения травм спинного мозга.

Некоторые ученые пытаются найти чисто *технические* пути, позволяющие освободить науку от надуманной моральной дилеммы, связанной с использованием бластоцист для изучения и лечения человеческих болезней. Предлагаются различные способы изъятия из таких клеточных комков ЭСК, не лишая человеческие эмбрионы потенциальной способности развиваться в полноценных младенцев. Один из вариантов – *партеногенез*, т.е., строго говоря, размножение без оплодотворения. Он предусматривает искусственное удвоение генов яйцеклетки (которая исходно содержит только *половину* их необходимого нам набора, поскольку вторая добавляется при зачати сперматозоидом), становящейся в результате способной к “девственному” делению и образованию бластоцисты с ЭСК для собственного донора. Другой подход - использование полученных в ЭКО-клиниках эмбрионов с дефектами, препятствующими их развитию в плод, или даже *индукция* таких дефектов в ДНК пациента перед созданием на ее основе методом ПЯСК бластоцисты. Это тоже лишает ее возможности дать человека. Недавно фирма “АСТ” разработала еще один метод – получение линий ЭСК из *единственной клетки*, отделяемой от бластоцисты, которая в данном случае остается вполне способной к нормальному развитию (это уже иногда делается для генетического тестирования ЭКО-эмбрионов перед их имплантацией)⁴⁷. Наконец, можно также заставить взрослые стволовые клетки приближаться по своим свойствам к эмбриональным - путем обработки ростовыми факторами и другими химическими посредниками. Этот способ вообще

не предусматривает использования в тех же целях “омолаживающей силы” яйцеклеток⁴⁸.

Я не сомневаюсь в ценности подобных работ, однако главным образом потому, что они способствуют изучению биологии стволовых клеток. Полученные в результате данные облегчат нам использование ЭСК и ПЯСК, когда, наконец, с научных скакунов спадут юридические путы, и они помчат нас к заветной мечте – практическому раскрытию всех заложенных в этих клетках колоссальных возможностей. Описанные выше специфические методики вряд ли пригодятся для лечения конкретных болезней или регенерации наших тканей, утративших с возрастом способность к самовосстановлению. Для этого просто-напросто будут доступны более простые и надежные способы. Они полезны скорее как политический маневр, далекий от магистрального развития науки и собственно человеческих потребностей. Их реальная ценность – временное освобождение ученых от бесполовых политических препятствий на пути превращения ЭСК, в том числе их полученных путем ПЯСК пациент-специфичных линий, в отработанные методики борьбы с болезнями и старостью.

К счастью, по поводу этих перспектив со мной согласны почти все мои коллеги, причем не только биогеронтологи, но и медики, и биологи-теоретики. Специалисты по грантам в Национальных институтах здравоохранения США с удовольствием выделяют средства на исследования ЭСК и ПЯСК всем, кто готов ими заниматься: достаточно лишь снять нынешние президентские ограничения. *Любой человек*, не зашоренный ложными представлениями о нашей моральной ответственности перед комочком недифференцированных клеток, признает необходимость интенсивнейших работ с ЭСК - в рамках разумных этических правил, а не надуманных запретов, порожденных путаницей, страхом и сиюминутными политическими интересами.

Разумеется, на пути к непосредственному использованию ЭСК в медицине еще остаются чисто научные препятствия. Нам нужны гораздо более надежные методики получения ЭСК и их превращения в конкретные типы клеток, способные выполнять весь диапазон функций, свойственных их “коллегам”, прошедших дифференцировку под руководством хитроумных программ развития, действующих внутри человеческого организма. Зарождающаяся область регенеративной медицины уже добилась удивительных успехов с использованием трансплантатов, выращенных из взрослых клеток и тканей пациента. Более того, тканевые биоинженеры подходят к созданию целых органов, засевая различными клетками биodeградируемые “строительные леса”, которые направляют их рост, приводя к образованию сложных функциональных структур, а сами затем рассасываются⁴⁹. Людям

уже пересаживают нормально действующие мочеиспускательные каналы, полученные из бесклеточного тканевого каркаса трупного происхождения, покрытого эпителием, выращенным из клеток пациента. Срок службы таких протезов достигает семи лет. Собаки породы бигл успешно используют сконструированные аналогичным способом функциональные мочевые пузыри, а кролики – эректильную ткань пениса. Но, конечно, наиболее впечатляет протез коровьих почек, выращенный с помощью ПЯСК (источник ДНК – ухо реципиента). В данном случае ЭСК, размножаясь, заполнили все уголки сложного биodeградируемого каркаса и дали пригодные для пересадки органы. Такие искусственные почки вполне нормально работали, фильтровали кровь и выделяли жидкость, близкую по химическому составу к обычной моче.

Таким образом, основным препятствием на пути стволовых клеток в наше потрепанное годами и болезнями тело остается политика – и с этим надо бороться.

☞ Помогите науке и медицине

Надеюсь, что почти все читатели этой книги – граждане демократических государств. Некоторые живут в странах, где ученые уже могут заниматься терапией с использованием ЭСК во вполне разумных этических и юридических рамках. Пусть они примут мои поздравления. Однако и все остальные могут способствовать развитию этой области, требуя от политиков своих стран увеличить финансирование соответствующих исследований.

Вероятно, большинство моих читателей проживает в США – государстве, которое до сих пор вносит максимальный вклад в прогресс мировой науки, привлекает массы молодых ученых, жаждущих как можно полнее раскрыть свои способности, и обладает правительственными и частными средствами, более чем достаточными – при снятии нынешних ограничений – для развития исследований стволовых клеток. Национальные институты здравоохранения США рвутся, образно говоря, снять ногу с тормозов, мешающих им использовать свои фонды, и нажать на акселератор – причем сильнее.

Ваш голос поможет научному процессу двигаться в магистральном направлении, перекрытом сейчас для специалистов. Пишите письма, присоединяйтесь к лоббистским группам, интересуйтесь положением дел в своем штате и позицией его конгрессменов. *Голосуйте* за предложения, способствующие изучению стволовых клеток, и за поддерживающих науку политиков. Прекрасную теоретическую информацию и советы, которые помогут вам поддерживать прогрессивное законодательство, предлагает *Коали-*

ция за развитие научных исследований на сайте <http://www.SAMPadvocacy.org>. В ваших силах приблизить день, когда эксперименты на животных приведут к появлению клинических методов лечения, а в конечном итоге и к омоложению стариков путем обновления их организма его собственными клетками, вернувшими себе младенческую плюрипотентность. Ученым нужна помощь всех сознательных граждан для скорейшего перенесения новейших медицинских достижений из лабораторий в жизнь страдающих пациентов. Помните: такая поддержка окупится сторицей, когда вам самим или вашим близким потребуется помощь современной науки.

ЯДЕРНЫЕ МУТАЦИИ И ПОЛНАЯ ПОБЕДА НАД РАКОМ



Если не считать небольшого количества ДНК в митохондриях, практически вся она содержится в ядре наших клеток. Ядерная ДНК, как и митохондриальная, с годами накапливает повреждения, которые теоретически чреваты бесчисленными проблемами со здоровьем. Однако, на мой взгляд, лишь одна из этих проблем – рак – возникает в течение периода, который мы сейчас считаем нормальной продолжительностью человеческой жизни. Следовательно, для окончательной победы над раком необходимо обезвредить ядерные мутации. И именно это составляет самый амбициозный компонент SENS – поиск путей к полному избавлению людей от злокачественного роста.

✎ В ПРЕДЫДУЩИХ ГЛАВАХ, особенно в главе 10, я уже постарался пробудить ваш интерес к теломерам и теломеразе. И я уверен, что вы хотите узнать о них побольше, поскольку, когда на вопрос о своих занятиях я отвечаю “борьбой со старением”, самой обычной реакцией (помимо вполне предсказуемого: “Надо поторопиться!”) является возглас: “А-а, теломерами”. Действительно, теломеры и теломераза играют очень важную роль в SENS. Однако, скорее всего, не ту, о которой большинство из вас догадывается.

Как уже не раз мною подчеркивалось, “инженерный” подход к борьбе со старением принципиально отличается от традиционных взглядов на возрастные

процессы и на то, что с ними делать. Он уделяет основное внимание конкретным повреждениям, которые накапливаются в стареющем организме, а не метаболическим механизмам, ведущим к его деградации.

Такой прагматичный подход делает проблему решаемой. Геронтологи старой школы занимались потенциальными причинами старения, имя которым легион. В результате одна лишь мысль о необходимости контролировать все эти процессы парализовала волю к конкретным действиям. Они требовали детального понимания огромного количества сложнейших взаимодействий, вмешательство в любое из которых, с одной стороны, затруднительно, а с другой, чрезвычайно нежелательными побочными эффектами.

Противовозрастная биоинженерия во многом освобождает нас от таких сложностей. Мы даем метаболизму делать свое необходимое, хотя и грязное дело, а сами ищем пути устранения или обезвреживания сравнительно небольшого количества возникающих в результате обменных процессов конкретных изменений – иными словами, молекулярных повреждений – структуры стареющего организма. Речь идет всего о семи классах таких проблем, решение которых вполне возможно и само по себе вряд ли способно привести к каким-либо отрицательным эффектам. Все, с чем мы боремся – изначально инертные, но потенциально патогенные особенности постаревшего организма, абсолютно не нужные нам в молодости, а значит, и вообще никогда в жизни.

Однако в этой логике есть слабое место и масштабы его поистине раблезианские. Речь идет о возрастных повреждениях ядерной ДНК. Если митохондриальная ДНК, обсуждавшаяся в главах 5 и 6, отвечает только за работу “энергетических станций” клетки, внутри которых находится, то ядерная представляет собой общую инструкцию по построению и функционированию всего нашего организма. Белки¹, которые ею кодируются, являются не только важнейшими структурными компонентами человеческого тела, из которых состоит все – от хрусталика глаза до сердечной мышцы и километров кровеносных сосудов – но и ферментами, т.е., крошечными машинками, обеспечивающими практически все жизненно необходимые процессы – от обезвреживания токсинов до синтеза клеточных мембран и передачи химических сигналов между клетками. Повреждение ДНК означает порчу нашей генетической программы: ее безупречные инструкции становятся “нечитабельными” для ферментов, которые в норме превращают (транскрибируют) эту информацию в конкретные распоряжения, передаваемые на клеточные “фабрики” по производству белков.

Причем дефекты генов с возрастом накапливаются. Ядерная ДНК непрерывно атакуется повреждающими факторами. В каждой нашей клетке она ежедневно получает около миллиона “ударов”, наносимых самыми разнообразными агентами, от ультрафиолетового излучения и средовых токсинов до свободнорадикальных побочных продуктов нормального метаболизма. Причем, даже

только что синтезированная ДНК не всегда свободна от изъянов: при размножении клеток копирующие их генетическую информацию механизмы могут допускать ошибки, способные привести к более или менее серьезным последствиям для нашего здоровья.

Многие такие дефекты быстро исправляются специальной клеточной системой контроля за качеством ДНК, однако некоторые по самой своей природе, так сказать, не подлежат ремонту. Другие повреждения потенциально устранимы, но сохраняются, поскольку на это не хватает времени из-за слишком быстрого клеточного деления, ведущего к их копированию. Такие стойкие изменения генетического материала называются мутациями. Если они отсутствуют в яйцеклетках и сперматозоидах, то не наследуются нашими потомками, однако сохраняются в многочисленном “потомстве” других клеток нашего организма, то и дело становящихся первоисточниками неустраняемых генных дефектов.

Повреждается не только собственно ядерная ДНК, но и так называемые эпигенетические структуры хромосом – связанная с ДНК ее белковая обкладка. Она играет важную роль в экспрессии наследственной информации, определяя, какие гены будут считываться, а какие оставаться отключенными. В результате, обладая одинаковой по составу ДНК, одни клетки дифференцируются в гепатоциты, другие в мышечные волокна, третьи в нейроны и т.п. Следовательно, повреждения эпигенетических структур хромосом потенциально чреваты не менее широким диапазоном функциональных клеточных аномалий, чем генные мутации. Включая или выключая, усиливая или ослабляя “не то, что надо”, такие эпимутации нарушают состав и работу клетки. Поскольку оба типа хромосомных дефектов эквивалентны по своим результатам, я позволю себе небольшую терминологическую вольность – исключительно для простоты изложения. Идет ли речь о повреждении генов или эпигенетических структур, я в обоих случаях буду по мере возможности использовать слово “мутация”.

Поскольку такие дефекты возникают случайно и не исправляются, со временем происходит их накопление. Следовательно, по определению, в рамках которого действует наша биоинженерная стратегия, речь идет именно о “возрастной” деградации нашего организма. Отсюда следует, что наша задача – либо устранять, либо обезвреживать эти повреждения, не давая им постепенно развиваться в клинические патологии.

☞ Не полегит ремонту

Дочитав до этой строчки, вы, возможно, уже ожидаете, что я предложу устранять мутации – по аналогии с удалением обсуждавшегося выше возрастного “мусора” типа КПГ, нежелательных клеток и засоряющих лизосомы метаболических отходов. Даже если дефектные гены не работают, про-

стое избавление от них проблемы не решает: клетка, лишенная связанной с ними функциональной генетической информации, все равно останется неполноценной. И в этом главная трудность – фактически она настолько серьезна, что одно время я считал ее непреодолимой и опасался, что мутации будут оставаться подводными скалами, способными пустить ко дну любой ковчег, какой бы запас прочности мы ни заложили в него, надеясь спастись от метаболического потопа и доплыть до безвозрастного будущего.

Возникает логичный вопрос: если нельзя уничтожать дефектные гены, нельзя ли их ремонтировать? К сожалению, в обозримом будущем это технически неосуществимо – хотя бы потому, что таких генов в ядерной ДНК слишком много. В нашем ядре почти все они представлены двумя копиями. Общий размер одной их них (“гаплоидного генома”) – около 3 млрд. “букв” ДНК. Сколько из них фактически соответствует инструкциям по формированию и функционированию организма, вопрос спорный, однако можно быть уверенным: существует множество мест, где изменения таких “букв” могут привести к неправильному прочтению “слов”, т.е. к искажению информации, необходимой для работы клеток. Соответственно, столько же потенциальных дефектов потребует нашего исправления.

Как же чинить такое количество разных генов? Теоретически пригодный для такого ремонта механизм должен как-то отличать интактный ген от дефектного. Верно, организм сам умеет это делать, сравнивая комплементарные цепочки ДНК в ее двойной спирали (а иногда и гомологичные хромосомы, т.е. копии ДНК: если помните, большинство генов представлено в каждой клетке двумя копиями), однако не похоже, чтобы такая способность особенно нам помогала. И трудно представить себе, как улучшить уже созданный эволюцией механизм починки генов, который, несмотря на не все свое несовершенство, все-таки удивительно эффективен.

В принципе можно было бы решить данную проблему, если бы такой ремонтный механизм ориентировался на “эталон”, независимый от генетической информации, находящейся внутри клетки. Это подразумевает молекулярный инструмент, содержащий интактные копии всех наших генов, которых десятки тысяч – обычно по тысяче с лишним “букв” ДНК в каждом. Теоретически высокоразвитая нанотехнология могла бы привести к созданию такой сложной машины², но разве что в очень отдаленном будущем: увы, пока человеческая цивилизация находится на слишком низком уровне.

Фактически же все изложенное выше даже преуменьшает сложность проблемы, связанной с поочередным исправлением всех мутантных участков. Может быть, вам кажется, что речь идет о хорошо заметных разрывах двойной спирали. Иногда это, действительно, так, но в других случаях исходное повреждение или его неправильный “ремонт” приводит к разделен-

ным десятками правильных “букв” дефектам в разных цепочках. Значит, даже располагая их эталонными копиями, потребовалось бы сначала расплести двойную спираль, потом по отдельности проанализировать обе комплементарных цепочки, исправить их и, наконец, снова сплести в единую структуру.

Эта проблема, действительно, сильно тревожила меня на проходившей в июле 2000 конференции, когда в моей голове впервые кристаллизовался инженерный подход к противозрастной медицине. Если нельзя просто выбросить поврежденную ДНК и не существует реальных способов исправления всех форм ее стойких, накапливающихся с годами дефектов, не идет ли речь о механизме старения, который в принципе нам неподвластен – и, следовательно, сравнительно быстро погубит нас, несмотря на устранение всех прочих молекулярных и клеточных возрастных изменений? Поначалу я старался игнорировать такую проблему, надеясь, что для ее решения будет достаточно других подходов к профилактике и лечению рака, однако со временем стал все больше в этом сомневаться.

☞ Кто боится страшных мутаций?

В предыдущих главах я по мере сил старался объяснять, как то или иное молекулярное или клеточное изменение (повреждение) ведет к развитию возрастной патологии. Однако гораздо чаще связь конкретных дефектов с типичными признаками биологического старения, т.е. утратой функций, повышением риска болезней и экспоненциальным ростом смертности, остается не вполне понятной. Однако во всех обсуждавшихся выше случаях этот момент не имел для нас особого значения. Возрастное повреждение, по определению, отсутствует в молодом здоровом теле, поэтому его устранение, очевидно, для нас не только безвредно, но и – насколько мы можем судить – почти всегда приносит существенную пользу.

Увы, способов починки или обезвреживания мутаций ядерной ДНК я не видел, поэтому для начала решил задаться более фундаментальным вопросом: стоит ли нам так серьезно беспокоиться по поводу данного конкретного типа возрастных изменений?

Естественно, такой вопрос казался многим моим коллегам, мягко говоря, провокационным. Если ядерная ДНК определяет структуру и функции нашего организма, любое повреждение ее молекулы, казалось бы, так или иначе, способствует старению. Эта концепция была впервые сформулирована еще в конце 1950-х, когда никто толком не знал, даже как устроены гены, но впоследствии получила почти всеобщее признание среди ученых, не говоря уже о неспециалистах.

Однако, несмотря на всю свою логичность, она никогда не получала прямого (или хотя бы косвенного, коррелятивного) подтверждения. Чтобы доказать отсутствие связи со старением какого-либо процесса, надо его ускорить или замедлить. Если это никак не отразится на продолжительности жизни или количестве возрастных патологий, значит, связи нет³. Первый вариант такой проверки в случае ядерных мутаций проводился, но для окончательных выводов данных недостаточно. У мышей делеция (выпадение участка) гена, который в норме обеспечивает устранение свободнорадикальных повреждений ДНК, не давая им превращаться в стойкие мутации, заметно увеличивает количество такого рода ее дефектов. Однако это, похоже, не ведет к накоплению у животных патологий и не сокращает их продолжительности жизни⁴. Тем не менее, данные результаты не слишком информативны, поскольку темпы мутирования мышшиной ДНК возрастают все-таки незначительно. Аналогичным образом, не приводит к четким выводам и недавнее исследование четырех линий мутантных мышей, в каждой из которых “нокаутирован” свой особый отвечающий за ремонт (репарацию) ДНК ген. У одной из этих линий накопилось больше, чем в норме, мутаций, однако их влияние на продолжительность жизни осталось неясным⁵.

Противоположная проверка, т.е. выяснение, приводит ли замедление накопления изменений ДНК или его полная остановка к противовозрастному эффекту, т.е. продлению “нормальной” продолжительности жизни и необычно долгому сохранению юношеского здоровья, по понятным причинам не проводилась ни для ядерных мутаций, ни для каких-либо иных конкретных механизмов старения. К сожалению (для науки), все известные нам эффективные способы борьбы со старением млекопитающих изменяют сразу множество параметров организма, включая активность антиоксидантных ферментов, сохранность белков и эффективность лизосомной системы “очистки”. Поэтому мы не можем ни приписать одному конкретному изменению основного противовозрастного действия, ни соответственно, назвать главной причиной возрастной деградации определенный тип молекулярных или клеточных дефектов. Например, низкокалорийная диета продлевает подопытным животным молодость и одновременно ведет к существенной потере ими костной массы, но никому не приходит в голову искать причинно-следственную связь между этими эффектами.

Однако пару лет назад были опубликованы результаты близкого по форме теста. Мышам вводили гены, обеспечивающие выработку дополнительных количеств антиоксидантного фермента каталазы, специфически нацеленного на разные части их организма^{6,7}. Я уже упоминал этих грызунов в предыдущих главах, однако стоит повториться. Каталаза обезвреживает

сильный окислитель, перекись водорода, а в результате потенциально защищает жизненно важные молекулы, по крайней мере, от одного типа повреждений. Добавка каталазы в митохондриях существенно замедляла накопление мутаций (делеций) митохондриальной ДНК, снижала уязвимость мышей для возрастных патологий и примерно на 20% увеличивала их максимальную продолжительность жизни – первое бесспорное доказательство генетического влияния антиоксиданта на этот ключевой параметр старения. Однако добавка каталазы, нацеленной на ядро клетки, хотя и уменьшала количество ядерных мутаций, жизни животных не продлевалась.

Для доказательства связи генетического поражения с возрастными дегенеративными процессами часто используют так называемое “ускоренное старение” подопытных животных, симптомы которого вызываются повышенными темпами накопления ядерных мутаций. Эти особи либо рождаются с множеством дефектов ДНК, либо подвергаются внешнему воздействию (токсичных химикатов или рентгеновского излучения), ускоряющему возрастное накопление ее дефектов за счет необычно частого мутирования или отключения механизмов репарации. К конкретным проявлениям “ускоренного старения” относятся такие известные и у человека генетические аномалии, как синдром Гетчинсона-Гилфорда (прогерия) и синдром Вернера.

Их жертвы, как четвероногие, так и двуногие, действительно, часто выглядят не по возрасту дряхлыми и страдают патологиями, напоминающими характерные для пожилого организма, от костных заболеваний и сердечной недостаточности до плешивости и катаракты. Однако сходство симптомов генетической аномалии и “нормального” старения еще не означает одинаковых механизмов их появления – как мокрый газон не говорит об одних и тех же причинах выпадения дождя и работы дождевальной установки. Почти все, что нарушает функционирование организма, но не сразу его убивает, дает картину, напоминающую “преждевременное старение”. Вопрос в том, связано ли то или иное патологическое изменение с возрастной дегенерацией обычного человека. Занимающийся эволюционной биологией генетик Майкл Роз из Калифорнийского университета, лично выведший удивительно медленно стареющую и долгоживущую линию плодовых мушек (дрозофил), сформулировал это лаконично: “Множество вещей могут убить человека раньше времени, нарушив различные жизненно важные механизмы, но для меня это все равно, что убивать мышей молотком: это не значит, что молоток связан с их старением”.

Если прямых доказательств связи какого-либо феномена с возрастными процессами нет, обычно пользуются косвенными, коррелятивными свидетельствами. Можно, например, сравнить скорости накопления тех или иных дефектов и темпы старения у разных видов животных. Практически

для этого сопоставляют хронологический возраст “натуральной” смерти “самых старых” особей после постепенной утраты ими юношеской функциональности. У всех животных с возрастом накапливаются мутации ядерной ДНК, однако темпы ее свободнорадикального поражения не демонстрируют четкой корреляции с максимальным долголетием (хотя в случае митохондриальной ДНК такая связь наблюдается).

Какое разочарование, верно? Однако хорошая новость, по крайней мере, для меня, следующая: собранные данные позволяют нам достаточно обоснованно утверждать, что случайные повреждения ядерной ДНК не вносят существенного вклада в старение. В главе 4 я уже резюмировал аргументы, приведшие к такому выводу, а сейчас остановлюсь на них поподробнее.

Идея о причинно-следственной связи ядерных мутаций со старением основана главным образом на вреде для здоровья известных мутантных генов, т.е. на передаваемой в поколениях генетической предрасположенности к разнообразным заболеваниям, включая возрастные патологии от рака до инфаркта миокарда и альцгеймеровское слабоумие. То же самое порой относится к мутациям, происходящим на очень ранних стадиях развития, когда эмбрион представлен комочком из нескольких клеток. Тогда повреждение ядерной ДНК всего в одной из них распространяется в ходе ее размножения на значительную часть развивающегося организма.

Однако после нашего рождения ситуация в корне меняется. Именно с этого момента логично вести отсчет новых ядерных мутаций и оценивать их связь с возрастной деградацией (в противоположность врожденной предрасположенности к возрастным патологиям). Это связано с тем, что возникшие мутации распространяются по организму только в ходе деления клеток, в которых возникли. Значит, в отличие от наследственных генетических аномалий, присутствующих во всех клетках взрослой особи (поскольку все они происходят от единственной оплодотворенной мутантной яйцеклетки), возрастные мутации появляются по очереди в отдельных ее клетках под действием случайных факторов типа космического излучения, проникающего на большой высоте в самолеты, или токсинов, выделяемых в нашу еду невидимыми спорами плесени. Очевидно, такие дефекты ДНК влияют лишь на крошечные фрагменты тела – единичные клетки или их потомство.

Это существенно ограничивает патогенный потенциал возрастных мутаций – их способность нарушать функции организма. Многие наши клетки, в том числе зрелых тканей, заметнее всего страдающих от возрастной дегенерации (например, в головном мозгу и сердце), вообще не делятся, так что мутации там не выходят за пределы отдельных немногочисленных клеток. Даже если мутантные клетки размножаются (скажем, в коже или слизистой кишечника), скорость этого процесса уравнивается короткой жизнью

их потомков. В результате такие мутации в каждый момент времени присутствуют лишь в нескольких клетках тела и их шансы на широкомасштабное “старящее” влияние ничтожны.

Кроме того, еще до углубленного изучения данного вопроса было известно, что мутации, полностью “нокаутирующие” гены, возникают сравнительно редко. Во-первых, большинство дефектов ДНК, нарушая состав кодируемых белков, если и отражается на их функции, приводит лишь к ее ухудшению, а отнюдь не к полной утрате. Во-вторых, даже если ген поврежден так сильно, что вообще перестает служить матрицей для белкового синтеза или начинает кодировать бесполезные, а то и токсичные продукты, все равно заметного вреда это, как правило, не приносит, поскольку обычно речь идет об утрате наследственной информации, не используемой данной клеткой. Вы помните: каждая клетка содержит ДНК, необходимую не только для ее конкретной работы, но и для всех функций организма. Клеточная специализация (с образованием кардиомиоцитов, нейронов, гепатоцитов и т.п.) подразумевает отключение большей части ДНК с оставлением ограниченного количества генов, необходимых для вполне конкретной работы. В типичной клетке активна примерно десятая часть их общего набора. Следовательно, около 90% ее генов может поражаться мутациями, и это никак не отразится ни на ней, ни на организме в целом.

Есть и еще одна хорошая новость. Хотя эволюция и слишком прижимиста, чтобы позволить клеткам расточать ресурсы на синтез ненужных белков, наши клетки все-таки способны переживать утрату многих из них, не становясь врагами организму в целом и даже продолжая по мере сил участвовать в его работе. Напоминаю: многие люди рождаются с наследственными мутациями, поражающими все клетки тела, включая те, в которых эти дефекты серьезно сказываются на важных для организма функциях, и, тем не менее, живут десятилетиями. Если аналогичные – действительно, вредные – мутации проявятся лишь в отдельных клетках, они вряд ли отразятся на нашем здоровье и долголетию, поскольку прочие, гораздо более многочисленные клетки той же ткани останутся полностью функциональными.

☞ Мутации: не много и не страшно

Ученые уверены: количество накапливающихся с возрастом мутаций, по-видимому, невелико – слишком мало для серьезного влияния на старение тканей, в которых они возникают. Это стало известно в значительной мере благодаря группе, возглавляемой профессором физиологии Яном Виджем, работающим сейчас в Баковском институте геронтологических исследований (США). Он придумал остроумный способ получения репрезентативных

выборок, позволяющих судить как о количестве мутаций, накапливающихся с возрастом в разных тканях, так и об общем характере наносимого ими ущерба.

Открытие группы Виджа стало сюрпризом для него самого и для множества других исследователей. Во-первых, оказалось, что точечных мутаций (изменений отдельных “букв” в “словах” или “фраз” генетической информации) для ухудшения тканевых функций или старения организма в целом далеко недостаточно.

Более того, в типичных клетках самой важной для нас ткани (головного мозга) количество мутаций за период между ранней и поздней зрелостью вообще не увеличивается, а их общий груз в любой ткани возрастает всего в два-три раза даже в пожилом возрасте^{8,9}. Вам кажется, это много? Помните, сколько генов содержит каждая клетка и как мало мутаций свойственно молодым людям. Удвоение и даже утроение их числа все равно не приведет к существенной порче ДНК, а если учесть, какой низкий процент генов экспрессируется в каждой клетке, как мало их дефектов ведет действительно к утрате (а не просто ухудшению) какой-либо ее важной функции, как слабо утрата определенной активности одной клетки сказывается на общей работе ткани, органа и целого организма, станет ясно: такие темпы возрастного накопления мутаций – скорее небольшое неудобство, чем сокрушительный удар по нашему телу.

Однако Видж сразу понял, что это отнюдь не означает полного отсутствия связи ядерных мутаций со старением. Его группа обнаружила другие типы повреждений ДНК, гораздо более чувствительные, чем порча или даже полное отключение единственного гена. Некоторые из них относятся к делециям, т.е. утратам длинных участков ДНК, т.е. одновременно многих генов, в результате, строго говоря, одного мутационного события. Речь идет о синхронном разрыве хромосомы в двух далеких друг от друга местах, и данные Виджа показывают, что существенная доля накапливающихся с возрастом мутаций – как бы ни мало было их общее количество – относится именно к такому типу дефектов. А это подразумевает гораздо более тяжкие последствия, чем порча каждой из них отдельного гена.

К счастью, как выяснилось, в большинстве случаев два синхронных разрыва ДНК не ведут к делеции¹⁰. Половина таких ситуаций относится к одиночным разрывам в двух разных хромосомах, физически между собой не связанных и не теряющих при этом своих участков. Представьте для наглядности, что в одном случае вы режете пополам две веревки и снова соединяете их половинки (пусть даже заставив их “сменить партнерш”), а в другом – в двух местах одну веревку и выбрасываете ее оказавшийся между разрезами участок. Итог, разумеется, разный. Причем даже при двух синхрон-

ных разрывах в одной хромосоме, зачастую ничего страшного не происходит: средний участок разворачивается на 180 градусов и снова соединяется с концевыми. Этот тип мутаций, называемый инверсией, обычно оставляет хромосому функциональной.

По этой и другим причинам не многие повреждения, грозящие, на первый взгляд, дециями, должны, по-видимому, наносить генетической информации намного более серьезный ущерб, чем точечные мутации.

Если обратиться к эпимутациям, имеющиеся на сегодняшний день данные ведут к такому же выводу. Самый изученный их тип – изменение картины метилирования, т.е. химического изменения генов, препятствующего их экспрессии. Действительно, у мышей¹¹ и людей¹² среднего возраста такое изменение выражено сильнее, чем у неполовозрелых особей, однако усугубляется ли оно в дальнейшем, с переходом к собственно старению (как в случае настоящих мутаций и других стойких форм молекулярного повреждения), неясно. Возможно, в солидном возрасте число связанных с метилированием эпимутаций перестает возрастать в организме, а то и уменьшается. Не исключено, например, что такие изменения происходят в раннем возрасте, а потом удерживаются на приемлемом уровне репаративными механизмами или даже путем устранения недопустимо aberrантных клеток, т.е. не накапливаются с годами подобно КПГ-сшивкам или митохондриальным мутациям. Не менее важно, с нашей биоинженерной точки зрения, и отсутствие данных о причинно-следственной связи наблюдаемых изменений в метилировании с какими-либо возникающими на протяжении всей жизни функциональными проблемами.

Общий вывод таков: с возрастом в любой клетке накапливается удивительно мало мутаций, а среди тех, которые все же возникают, очень немногие существенно сказываются на ее функциях.

☞ Меняются условия, а не гены

Работы Виджа и некоторых его предшественников оценивали влияние мутаций на старение, путем измерения частоты возрастных структурных изменений генов. Однако, чтобы доказать наличие такого влияния, часто привлекаются другие данные – полученные в ходе изучения генной экспрессии. Начиная с конца 1990-х, ученые используют изобретение, неофициально известное как “генный чип”. Оно позволяет оценивать не структуру, а активность почти всех наших генов, что очень ценно для сравнения старых и молодых животных, в том числе нашего с вами вида¹³.

Полученные этим способом результаты четко демонстрируют весьма существенные возрастные изменения генной экспрессии. Их часто – некорректно

– интерпретировали как доказательство “старящей” роли мутаций, поскольку активность генов считали непосредственно связанной с их структурой. Такое мнение, казалось бы, подтверждалась наблюдаемой корреляцией между изменениями экспрессии и появлением маркеров “домутагенных” повреждений ДНК свободными радикалами, т.е. дефектов, которые еще могут быть исправлены, но, если этого не происходит, становятся классическими мутациями.

Однако у сдвигов в генной активности есть и другое, более простое объяснение. Она по определению то и дело меняется, причем не только с возрастом. Наши клетки постоянно находятся в состоянии динамической адаптации к своей среде, т.к. приспособливают свою генную экспрессию к существующим на данный момент условиям, которые, очевидно, тоже не постоянны.

Поскольку клетки и ткани так или иначе накапливают возрастные дефекты, ухудшающие их нормальное (“молодое”) функционирование, организм параллельно адаптируется и к этим изменениям. Например, по мере усиления окислительного стресса с ростом числа клеток, захваченных мутантными митохондриями, повышается активность генов, вырабатывающих защитные антиоксиданты и факторы теплового шока, которые помогают устранять некоторые возникающие в такой ситуации белковые дефекты. Когда сильный окислительный стресс ведет к инфильтрации артериальных стенок ЛПНП, поврежденными свободными радикалами, окружающие клетки выделяют больше воспалительных агентов для привлечения поглощающих этот токсичный жир макрофагов. Когда сердечная мышца теряет эластичность из-за множества межбелковых сшивок, мы синтезируем дополнительные количества ремоделирующих ферментов, которые способствуют рассасыванию деградировавшей ткани, т.е. расчистке места для потенциального замещения ее свежим материалом.

Кроме того, возрастное изменение среды, окружающей клетку, может нарушать в ней нормальную генную активность. В некоторых случаях этот эффект легко прослеживается. Например, окислительный стресс непосредственно подавляет экспрессию ряда генов. Существуют и более сложные механизмы такого влияния. В частности, как уже говорилось, свободные радикалы являются не только побочным продуктом нормального метаболизма, но и вырабатываются специально как сигнальные агенты различных систем внутри и вне клеток. По мере возрастного повышения уровня свободных радикалов чрезмерный окислительный стресс начинает искажать данные сигнальные механизмы – вносить в них своего рода “шум”. Это, в свою очередь, может приводить к неадекватным сдвигам в метаболизме и генной экспрессии, т.е. к неверным реакциям клетки, которые вызываются “нерасслышанными”, “непонятыми” ею или попросту “контрафактными” сигналами.

Известны и другие примеры. Важно одно: наблюдаемые в тканевых исследованиях возрастные сдвиги в генной активности – не причины старения, а адаптивные (порой контрадаптивные) реакции на него. В частности, такие изменения в клетках, подвергающихся свободнорадикальной атаке, могут происходить не из-за повреждения ею генов, а потому, что усиление окислительного стресса требует приспособления метаболизма к новой ситуации, а значит, не такой, как прежде, картины генной экспрессии.

Не стоит подозревать меня в подтасовке. Действительно, я объяснил, что изменения генной экспрессии могут быть компенсаторными реакциями на старение, а не его причинами, но как будто забыл о резонном вопросе: действительно ли такие изменения являются преимущественно реакциями, а не причинами? Ответ достаточно прост. Речь идет именно о реакциях, поскольку изменения скоординированы. Единственная причина, позволившая упомянутым мною исследованиям обнаруживать определенные сдвиги в экспрессии того или иного гена – их одновременное появление во всей массе клеток анализируемой ткани. В противоположность этому, мутации и эпимутации, скорее всего, меняли бы в каждой клетке активность не того же самого гена, что и во всех прочих.

Такой скоординированный сдвиг генной экспрессии в ответ на старение наиболее очевиден в сравнительных исследованиях (с применением генных чипов) нормально стареющих животных и их сверстников с ограничением калорий (ОК) в рационе^{14,15,16}, которое, как уже говорилось, является единственным доступным на сегодняшний день способом замедлить старение млекопитающих, если не возиться с их генами. Эти исследования показывают, что возрастные изменения активности наблюдаются главным образом у генов, кодирующих антиоксидантные, воспалительные, ремоделирующие и связанные с тепловым шоком белки, т.е. именно агенты, необходимые для реакции на возрастную деградацию организма. Как выяснилось, начатое в старости ОК не только замедляет, но и обращает вспять многие из названных изменений. Следовательно, они не могут быть результатом мутаций: если ОК и тормозит накопление дефектов ДНК (и других возрастных повреждений), оно никак не может устранять уже возникшие структурные аномалии. Зато оно ослабляет воздействия, ведущие к изменению генной экспрессии: сокращает выработку свободных радикалов в митохондриях, замедляет накопление клеток с митохондриальными мутациями, снижает в крови уровень глюкозы, замедляя гликирование белков и т.п. Иными словами, стоит устранить способствующие старению условия, и активность генов снова “помолодеет”.

Подобная логика заставила некоторых специалистов, в том числе и группу Виджа, провести гораздо более тонкие исследования – с оценкой генной экспрессии отдельных клеток у пожилых и молодых животных. Оказалось,

что с возрастом резко возрастает разброс этой активности¹⁷. Очевидно, его трудно связать с адаптацией, объясняющей общую тенденцию возрастного изменения генной экспрессии, о которой говорилось в предыдущем абзаце, поскольку приводящие к ней условия более или менее одинаковы для всех клеток данной ткани, и те должны сходным образом на них реагировать.

Однако перед тем как сделать вывод о том, что возрастное увеличение межклеточной разницы в генной активности является результатом мутаций (или эпимутаций), стоит рассмотреть и альтернативные гипотезы, а их хватает. Возможно, например, что разброс повышается каким-то иным связанным с возрастом стрессором. Группа Виджа сумела воспроизвести аналогичное расширение диапазона экспрессии, подвергая культуру клеток окислительному стрессу. Как уже говорилось, он нарушает их реакцию на сигнальные молекулы, как локальные, поступающие из непосредственного клеточного окружения, так и на “общие” типа гормонов или других факторов. Очевидно, эти нарушения в разных клетках неодинаковы, поскольку вытекают из хаотического внутреннего и внешнего “шума”. Значит, если ослабить окислительный стресс, возросшая изменчивость могла бы вернуться к своему исходному уровню.

Разброс в реакциях объясним также другими типами повреждений, которые накапливаются случайно, т.е. с неодинаковой скоростью в разных клетках: одни быстрее утрачивают теломеры, в других возникает больше КПП или митохондриальных (но не ядерных) мутаций. Очевидно, сдвиги генной экспрессии, необходимые для усиления деградации КПП на поверхности кардиоцитов отличны от тех, которые происходят в ответ на избыток “мусора” внутри них. Разные масштабы разных типов молекулярного поражения вызывают в соседних клетках разные адаптивные изменения генной активности – как для компенсации нарушений метаболизма, так и – во многих случаях – для их потенциального устранения. Такая картина наблюдалась у круглых червей¹⁸ и, судя по предварительным исследованиям, сходным образом вполне объяснимо также возрастное увеличение межклеточной изменчивости генной экспрессии у крыс и человека¹⁹.

Такие повреждения могли бы генерировать за пределами клетки, в которой происходят, своего рода “ударные волны”, изменяющие генную активность в соседних клетках, старающихся адаптироваться к этому воздействию. Вспомните о клеточном старении, рассматривавшемся в главе 10. Активация его программы, естественно, изменяет экспрессию генов стареющей клетки – по сравнению с соседями. Однако и в них активность генов меняется в ответ на выделяемые ею ростовые факторы, воспалительные сигналы и ремоделирующие белки. И чем ближе клетки к стареющей, тем выраженнее в них эти адаптации.

Важный момент: они отличают соседней стареющей клетки как от нее самой, так и от других клеток, не испытывающих ее непосредственного влияния. Самый наглядный пример: секретируемые ею ростовые факторы запускают программу размножения в соседних клетках, соответственно изменяя экспрессию их генов. Эта же самая программа навсегда отключена в самой стареющей клетке и остается инактивированной в клетках, достаточно удаленных от нее, чтобы не испытывать такого влияния.

Аналогичные рассуждения применимы к клеткам, страдающим от любых проблем. Причем возникающий разброс активности может действовать и в противоположном направлении. Иными словами, поврежденные клетки способны не только “портить” окружающих собственной секрецией, но и принимать от здоровых соседей нормализующие сигналы, по мере сил на них реагируя. Лучше всего изученный случай такого рода – рак^{20,21}. Некая клетка содержит мутации, чреватые злокачественным ростом, но контролируется соседями, которые могут оказывать на нее разнообразнейшее воздействие - от подавления аномальной пролиферации (так называемое контактное ингибирование) до индукции апоптоза. Как и в случае любых адаптивных изменений, такой контроль требует изменения у бдительных соседей генной экспрессии, а в результате она будет отличаться от наблюдаемой и в самой потенциально раковой клетке, и в удаленных от нее здоровых клетках той же ткани.

Следовательно, увеличение с возрастом внутритканевого разброса генной активности клеток вовсе не обязательно связано с ядерными мутациями. Более того, наблюдаемый рост экспрессивного разнообразия в значительной мере полезен: оно свидетельствует о множестве способов, которыми клетки стараются (пусть даже тщетно) сохранить свою функциональную ценность, сталкиваясь с уникальными для каждой из них возрастными проблемами.

Итак, если возрастные изменения генной экспрессии не вытекают из существенного увеличения количества ядерных мутаций, а являются результатом других типов повреждений (и попыток клеток, успешных и неудачных, противостоять им), значит, нам, биоинженерам, можно не обращать на ядерные мутации внимания, сосредоточившись на реальных причинах возрастной генной дисфункции, т.е. нарушениях, заставляющих наши клетки предпринимать все более отчаянные, бестолковые, панические усилия удержаться на поверхности затягивающего их водоворота старения. Если освободить их от этих проблем (митохондриальных мутаций, КПГ-сшивков, накопления внутреннего жира и т.п.), т.е. вернуть к норме (соответствующей молодому здоровому организму) внутреннюю и окружающую среду клеток, логично ожидать и нормализации генной экспрессии.

По иронии судьбы, вполне возможно, что как раз после устранения всех прочих возрастных повреждений ядерные мутации, в конце концов, начнут вносить свой вклад в приближение нашей смерти. Судя по имеющимся данным, клетки накапливают сравнительно мало таких мутаций, и эти мутации слабо влияют на функции организма в течение нормальной продолжительности жизни. Что будет, когда этот срок растянется на столетия при сохранении прежних темпов мутирования ДНК и не более совершенных, чем сейчас, механизмов ее репликации и репарации? Вполне возможно, эффекты, которые не накапливаются до патологического уровня, скажем, лет за 90, станут представлять реальную угрозу в следующие десятилетия.

Впрочем, сейчас волноваться об этом рано. Как я уже объяснял в гл.9 применительно к КПГ-шивкам, один из главных принципов инженерного подхода к разработке противозрастной биотехнологии в том, что нет необходимости решать все проблемы одновременно. Сначала надо заниматься устранением причин, вызывающих процесс старения в рамках нынешней средней продолжительности жизни. Когда мы от них избавимся и будем оставаться молодыми и здоровыми до преклонного, по современным меркам, возраста, другие формы молекулярных дефектов, сейчас нам практически не вредящие, рано или поздно станут достигать пороговых уровней, соответствующих ощутимому угасанию тех или иных функций.

Тогда встанет вопрос о следующем поколении SENS-методик – для устранения других (возможно, сейчас еще не известных) источников возрастных патологий. К счастью, заметно удлинившаяся жизнь даст нам достаточно времени для изучения таких типов повреждений – в собственном организме и в опытах с менее долговечными животными, на которых мы будем испытывать очередные противозрастные подходы, приводящие к желаемому омоложению. Это позволяет надеяться, что мы успешно справимся со всеми возникающими проблемами. Главное – преодолеть барьеры, которые мешают нам жить сейчас, а об остальном, как говаривала Скарлет О’Хара, можно подумать и завтра. Исходя из всего, что известно науке, ядерные мутации к числу таких барьеров – пока – не относятся.

☞ Исключение, создающее правило

До сих пор в этой главе я настаивал на практической безобидности ядерных мутаций, поскольку, даже если они и вредят клетке, то обычно несущественно, а редкие случаи тяжелого ущерба ограничиваются небольшим числом клеток, дисфункция которых вполне компенсируется остальными клетками той же ткани. Однако, как вы догадываетесь, из этого правила существует ужасное исключение – рак. Эта болезнь вызывается именно ядер-

ными мутациями (хотя, как уже говорилось, для превращения аберрантной клетки в собственно злокачественную только их обычно недостаточно). А распространенность ее явно увеличивается с возрастом.

Ниже будут рассмотрены возможные, на мой взгляд, пути к победе над раком. Однако сначала я объясню, почему он привел к развитию у нас на первый взгляд “избыточного” механизма защиты от накопления ядерных мутаций.

Прежде всего вспомним, что одна из причин удивительного коварства рака – широкое разнообразие потенциально вызывающих его мутаций. Решающим шагом на пути превращения здоровой клетки в злокачественную может стать поломка любой из многочисленных систем, защищающих нас от этого процесса, например мутация, ведущая к образованию дефектного белка-супрессора опухоли при клеточном старении или апоптозе, к избыточной выработке клеточных рецепторов для ростовых сигналов, к реакции отключенного гена, кодирующего теломеразу.

Как и в случае других причин смерти от старости, сформированный эволюцией уровень защиты от потенциально канцерогенных мутаций ограничен расходами на создание и поддержание соответствующих механизмов. С одной стороны, нет смысла, образно говоря, класть все яйца в одну корзину, делая организм таким устойчивым к процессам старения, что он сможет оставаться молодым и здоровым пару сотен лет, если у него слишком велики шансы умереть от голода, холода, инфекции или стать чьим-нибудь обедом уже на третьем десятке. Лучше направить ограниченные ресурсы на утепление шерсти, увеличение когтей или на укорочение беременности. С другой стороны, животному все-таки нужно сохранять свою внутреннюю интактность весь период, на протяжении которого он, исходя из статистического ожидания, способен успешно противостоять внешним опасностям, поскольку каждый год здоровой молодости повышает вероятность передачи его генов следующему поколению. Если вы в этом не уверены, перечитайте главу 3.

Сталкиваясь с такими противоречивыми приоритетами, естественный отбор старается создать достаточно надежный механизм защиты от потенциально канцерогенных мутаций, действующий как минимум все те годы, когда особь с высокой вероятностью переживает суровые зимы, войны и нападения хищников. Однако именно из-за коварства рака, к развитию которого ведет множество альтернативных мутаций, организм не может позволить себе быть особенно разборчивым в выборе нуждающихся в защите генов. Единственный эффективный способ противораковой обороны – забота об интактности всей ядерной ДНК.

Вот почему ее возрастные мутации такая редкость. Вот почему клетки

снабжены такой совершенной системой репарации ДНК, охватывающей все их гены, несмотря на то, что влияние подавляющего большинства мутаций на общее состояние организма ничтожно. Эволюция идет на дополнительные страховочные расходы, хотя, казалось бы, ей достаточно было бы потратиться лишь на защиту немногих, важнейших для предотвращения канцерогенеза генов^{22,23}.

❧ Задача на 2015

Из приведенного выше анализа следует, что для разработки комплекса мер, достаточных для первого существенного продления человеческой жизни, нет необходимости заниматься всеми мутациями. Этот вывод стал решающим шагом к разработке мною еще в 2000 общих положений SENS. Я понял, что диапазон проблем, создаваемых ядерными мутациями, на нынешнем этапе гораздо уже, нежели принято думать. Мне стало ясно: на протяжении типичной для современного человека жизни подавляющее большинство накапливающихся с возрастом ядерных мутаций практически безвредно: скорость их накопления недостаточна для существенного вклада в функциональное старение нашего организма. Однако, к огромному сожалению, мы вынуждены считаться с весомейшим исключением из такого правила – раком. Значит, в принципе, мы могли бы попросту игнорировать ядерные мутации, но только если бы смогли отыскать эффективный способ защиты от этой смертельной болезни.

Ставка очень высока. Рак – главное препятствие на пути к созданию безвозрастного организма. Мы можем сбросить молекулярные оковы КПП, освободить наш мозг и сердце от амилоидной паутины, очистить от мусора лизосомы и т.п., но, не справившись с этой единственной болезнью, будем в большинстве случаев умирать на девятом десятке.

Если вы следите за появляющимися в популярной прессе сводками с фронтов войны против рака, возможно, он тревожит вас гораздо меньше, чем следовало бы. Средства массовой информации вместе с регулярно мелькающими в них учеными и бюрократами любят трубить о любых успехах (точнее говоря, о малейших намеках на успех) в борьбе с этой патологией. Появляется так много сообщений о новых потенциальных способах ее лечения, что вполне может возникнуть впечатление о нашей близкой и окончательной победе над раком. Это в первую очередь относится к рассматривавшейся в гл.10 прицельной противораковой терапии, которая в принципе (по крайней мере, в перспективе) намного эффективнее и безопаснее хирургических операций, токсинов и облучения, десятилетиями оставшихся главными средствами онкологических клиник.

И вы не одиноки в своем заблуждении, которое разделяют даже серьезные ученые. В 2003 никто иной, как доктор Эндрю фон Эшенбах, директор Национального онкологического института (НОИ) США, заявил об амбициозной, но (по его мнению) вполне реалистичной задаче своей организации – к 2015 избавить человечество от вызываемых раком смертей и страданий. Доктор фон Эшенбах не просто озвучил свои сладкие грезы: он набросал четкую схему прогресса мировой онкологии – во главе с НОИ – на ближайшие десять лет с хвостиком. Более того, это стало официальной программой его института, так называемой “Задачей-максимум на 2015”. Она получила настолько широкую огласку, что обычно упоминается просто как “2015” – по аналогии с волнованной нас в свое время компьютерной “Проблемой 2000”.²⁴

На мой взгляд, эта задача совершенно невыполнима – и возникла она только из-за того, что кто-то проглядел слабые места в постулатах, на которых она основана. Во-первых, ее авторы прямо признаются: “Речь не идет о ‘лечении’ рака, а скорее о профилактике многих его типов и контроле над остальными, который бы позволил людям жить с ними, не опасаясь скорой смерти от этой причины”²⁵. Вполне оправданная медицинская цель (при условии ее выполнимости): если держать рак в узде, как, например, взрослый диабет (2-го типа) или СПИД, когда болезнь присутствует в организме, но проявляет себя настолько слабо, что пациенты ведут вполне нормальную жизнь, множество людей избавилось бы от физических и моральных страданий.

Однако рак принципиально отличается от этих патологий, поскольку его хронический “контроль” невозможен. Диабет и, скажем, гипертонию удается удерживать в безопасных для жизни и практически бессимптомных рамках именно потому, что речь идет о более или менее стабильных состояниях. И напротив, рак страшен своей непрерывной эволюцией: это кладезь генетической изобретательности, постоянно находящий новые, все более хитрые способы ускользнуть от наших попыток его контролировать. Подходить к нему как к хронической болезни – значит, полностью игнорировать основы естественного отбора.

Раковым клеткам свойственна поразительная генетическая нестабильность, в значительной степени вытекающая из того, что почти во всех случаях патогенез начинается с мутационного отключения одного или нескольких “стражей генома”, т.е. генов, отслеживающих мутации и запускающих либо процесс репарации ДНК, либо программы клеточного старения или апоптоза. Без такого непрерывного надзора и текущего ремонта все случайные генетические дефекты, ежедневно возникающие в наших клетках, становились бы полномасштабными мутациями, причем процесс шел бы по нарастающей по мере порчи все большего количества регуляторных генов.

Многие из этих мутаций для раковой клетки летальны, но некоторые позволяют давать жизнеспособное потомство, отличное и от родителя, и от сво-

их злокачественных кузенов внутри той же опухоли. И тут в игру вступает естественный отбор. Раковые клетки по определению размножаются сногшибательными темпами. Они вышвыривают своих ублюдочных потомков в мир, где выживают наиболее приспособленные. Иммунная система или онкологии вскоре набрасываются на опухоль, целясь в уязвимые места метаболизма раковых клеток: например их зависимость от определенных ростовых факторов, необходимость в реактивированном гене теломеразы или повышенную потребность в фолиевой кислоте. Однако клетки одной и той же опухоли удивительно разнообразны: у каждой из них свой уникальный набор нормальных и аномальных генов. В результате как минимум некоторые из этих клеток способны переживать любой конкретный тип атаки – благодаря способности обезвреживать определенные токсины или альтернативному способу поддерживать свою плодовитость при блокировке обычного пути трансдукции стимулирующего ее сигнала.

Таким образом, в конечном итоге неэффективной оказывается даже терапия, убивающая 99% клеток данной опухоли. Где-нибудь в глубине ее уже наверняка возник неприметный до поры до времени родоначальник “линии” злокачественных клеток, несущих мутацию, которая позволяет им выдерживать воздействие, уничтожающее всех их сородичей. Стремительное размножение таких мутантов продолжается, несмотря на терапию, или возобновляется, когда ее прерывают или отменяют, поскольку пациент больше не в силах выдерживать стресс, связанный с лечебными процедурами. Иными словами, часть раковых клеток проходит отбор на выживание, осуществляемый тем самым фактором, который предназначался для их истребления. Когда мы обнаружим на прежнем месте новую опухоль, мы примем ее за рецидив уже “уничтоженного” рака и снова используем достаточно эффективную в прошлом терапию. Однако теперь она окажется бессильной. Правильно говорят: нельзя перехитрить эволюцию.

Когда я размышлял обо всем этом на рубеже тысячелетий, готовясь сформулировать исходные положения SENS, в моей голове кристаллизовалась безрадостная мысль. “Не мое дело – подумал я – расчищать дорогу раку”.

☞ Как заставить рак увянуть

Как человек трезвый, я формулировал свою собственную онкологическую задачу таким образом: разработать терапию, способную избавить нас от клинических проявлений рака на протяжении периода эффективного действия других методов SENS, защищающих организм от прочих возрастных патологий. Приведенные выше рассуждения сразу же исключали все известные на сегодняшний день подходы, заставляющие врачей вести беско-

нечные битвы против врага, на стороне которого выступают неумолимые силы эволюции. Воюя современным оружием, человек может выигрывать отдельные сражения, но никогда не добьется окончательной победы.

Ответ пришел ко мне в марте 2002 за кружкой пива в одной итальянской трактирии. Я очередной раз раздумывал над тем памятным вечером 2000 в Калифорнии, и меня осенила казалось бы очевидная мысль, из которой неумолимо следовали революционные выводы. Я понял: чтобы победить рак, нужна терапия, не связанная с воздействием, позволяющим его клеткам выжить благодаря мутационному изменению генной экспрессии. Следовательно, наш подход должен основываться на трех принципах. Во-первых, надо блокировать доступ раковых клеток к какому-то инструменту, абсолютно необходимому для выживания любого их типа, чтобы они не могли компенсировать эту утрату путем использования альтернативного метаболического пути, появляющегося в результате мутации. Во-вторых, этот инструмент должен быть устранен способом, исключаяющим возможность его мутационного восстановления. В-третьих, надо, чтобы отсутствие такого инструмента не сказывалось на состоянии нормальных, нераковых клеток.

Я быстро понял: во всех трех случаях речь идет о теломеразе. Этот фермент уже упоминался в главе 10 при обсуждении стареющих клеток, но сейчас пора поговорить о нем подробнее. Наша ДНК изначально снабжена концевым “бессмысленным” (не кодирующим) участком. Он называется теломерой и по отношению к генам играет ту же роль, что и короткий пустой отрезок в начале магнитной ленты с музыкальной записью. Он нужен исключительно для соединения носителя информации с воспроизводящей ее системой (кассетой или участвующими в репликации ДНК молекулами). Без такого отрезка часть информации (начало музыки или концевого гена) была бы недоступной для “считывания”.

Одно из ключевых отличий теломеры от начала магнитной ленты в том, что с лентой, сколько ее ни прокручивай, ничего не происходит, а теломера при каждой репликации ДНК слегка укорачивается, а вдобавок может повреждаться различными агентами, например свободными радикалами. Если бы не было теломеразы, теломера в часто делящихся клетках рано или поздно полностью исчезла бы и началась бы эрозия собственно генов. Этот фермент периодически удлиняет “бессмысленный” участок ДНК, не давая ему становиться слишком коротким.

Как и в случае всех наших генов, кодирующая теломеразу ДНК присутствует во всех наших клетках. Однако, поскольку большинство их, если и делится, то редко, этот фермент им не нужен, и его ген в них инактивируется. Такое широко распространенное отсутствие необходимости в теломеразе используется эволюцией как один из ключевых компонентов нашей системы

противораковой защиты: ограниченность размеров и невозможность восстановления теломер не позволяет нормальным клеткам делиться неограниченно долго. А именно эта способность лежит в основе злокачественного роста.

Чтобы клетка стала собственно раковой, в ней должно накопиться от пяти до десяти определенных мутаций, а это статистически требует множества делений и естественного отбора (если потенциально канцерогенных мутаций меньше, они лишь повышают генетический риск перерождения, приводя к предраковому состоянию). Арифметика дальше сложная, но, согласно сложившемуся консенсусу, угроза для здоровья возникает минимум после 200-300 делений раковой клетки, хотя клинически значимая опухоль содержит “всего лишь” триллион (миллион миллионов, 1 000 000 000 000) клеток, а такое их количество набирается уже примерно через 40 делений их предшественницы, содержащей все раковые мутации. Чтобы опухоль стала в полном смысле злокачественной (а не локализованной, когда ее нетрудно удалить хирургически), т.е. активно прорастала в окружающие ткани и распространяла по всему организму свои фрагменты, способные давать вторичные очаги роста (метастазы), лихорадочное деление раковых клеток должно продолжаться гораздо дольше. Такое бурное их размножение является также одной из главных причин устойчивости рака к лечению – оно обеспечивает эволюцию новых метаболических путей, позволяющих противостоять всевозможным агрессивным воздействиям.

В свете вышесказанного неудивительно, что мутации, освобождающие теломеразу от блокады, подавляющей ее активность в нормальных клетках, обнаружены более чем в 90% раковых клеток. Остальные 10% тоже умеют восстанавливать свои теломеры с помощью еще плохо понятного механизма их *альтернативного удлинения* (АУТ), который будет обсуждаться ниже. В любом случае, без такой способности размножение потенциально злокачественной клетки быстро остановится, приведя к возникновению крошечной (и обычно недолговечной) бородавочки, а не смертельно опасной болезни.

Значит, сумев вырвать этот инструмент из рук рака, мы заставили бы все его зачатки в организме “увядать” задолго до развития жизнеугрожающих опухолей. Фактически многие из них не успевали бы даже стать собственно раковыми, поскольку не имели бы возможности накопить весь спектр мутаций, необходимых для появления у клеток способности к неограниченному размножению.

Конечно, я не первый до этого додумался. Несколько биотехнологических компаний и, прежде всего, “Герон”, сделавшая себе имя как раз на исследованиях теломеразы, работают над созданием противораковых средств, обеспечивающих инактивацию этого фермента. Однако такие медикаменты страдают тем же недостатком, что и любые другие подходы, связанные с ле-

карствами, изменяющими генную экспрессию. Они играют роль факторов естественного отбора, стимулирующего эволюцию болезни. Ингибитор теломеразы убил бы те раковые клетки, в которых полностью подавил бы ее работу (и где не действует механизм АУТ), но не подействовал бы на другие – с мутациями, позволяющими удлинять теломеры в новых условиях. А возможностей для этого предостаточно: например повышенная активность самой теломеразы или ферментов, обезвреживающих ингибитор, или, скажем, изменение белков на поверхности клетки, затрудняющее проникновение внутрь нее лекарства. Каким бы ни был механизм, если он обеспечит выживание хотя бы одной клетки, останется реальная угроза возобновления ракового роста, на который данный медикамент уже не подействует.

Лечить человека наполовину нет смысла. Если мы, действительно, хотим лишит раковые клетки доступа к теломеразе, мы должны стеречь в них саму память о ней. А я видел лишь один надежный путь к этому – устранение (делеция) кодирующего этот фермент гена.

Конечно, эволюция может создать такой ген заново, однако это потребует очень много времени. В самом деле, крайне немногие эволюционные изменения ведут к появлению новых генов или даже к утрате старых – именно в связи со сложностью такого процесса. Гораздо чаще в ходе эволюции меняются механизмы, регулирующие работу прежних генов, или функции кодируемых ими продуктов²⁶. Например, хрусталик глаза образован прозрачными упругими белками, кристаллинами, которые, казалось бы, возникли с единственной целью – фокусировать свет на сетчатке. Однако в нервной системе асцидии аналогичная структура входит в состав органа, воспринимающего гравитацию, т.е. определяющего, где верх и где низ. Соответствующий ген, естественно, присутствует во всех клетках ее тела, но в подавляющем большинстве из них не работает. Вероятно, мутация в “предглазной” клетке нашего предка обеспечила его экспрессию и синтез прозрачного белка на новом месте, удобном для восприятия света. А в наших клетках нет сходных с теломеразным генов, которые готовы быстро заместить его путем мутаций – для нужд ракового роста.

Значит, делеция гена теломеразы – в отличие от его ингибирования – почти наверняка быстро остановит рост опухоли (правда, остается еще АУТ, но это не страшно – см. ниже). В 2000 я надеялся и даже теоретизировал в статье, вышедшей после первой конференции по SENS²⁷, что должен существовать способ, позволяющий провести такую операцию только в раковых клетках. Однако постепенно мое мнение изменилось. Я понял: можно сделать это в большинстве раковых клеток, но только не во всех – по тем же самым эволюционным причинам, о которых уже не раз говорилось. Любое оружие, нацеленное исключительно на раковые клетки, должно отли-

чать их от нормальных. Соответствующая разница связана с генами. Значит, слишком велика вероятность появления мутантной субпопуляции раковых клеток, не отличимых – для нашего оружия – от нормальных.

В конечном итоге спустя полтора года в итальянской трагтории я перестал ломать голову над этой проблемой. Стало ясно: единственный радикальный способ лишить каждую раковую клетку теломеразного гена – устранение его из всех клеток организма. Заодно, естественно, нужно полностью уничтожить в нем и механизм АУТ, которым пользуется меньшинство раковых клеток, не нуждающихся для бесконечного размножения в теломеразе. Соответственно свою терапевтическую задачу я сформулировал как “Запрет на удлинение теломер во всем теле” (ЗУТВТ).

Удаление теломеразы из каждой клетки нашего организма исключило бы возможность рака, не дав ему даже начаться. Однако вы, наверное, понимаете, почему я так долго шел к такому варианту – и почему до него не додумались раньше. Полное отсутствие возможности удлинять теломеры по всему нашему организму тоже создало бы жизнеугрожающую ситуацию, поскольку внезапно резко ограничило бы продолжительность регулярного деления нормальных клеток (например, кожи, костного мозга, слизистой оболочки кишечника), т.е. обновления образуемых ими тканей. Как только мы полностью лишимся теломеразы, неумолимо затикают часы. Укорочение теломер при каждом делении стволовых клеток станет приближать момент их перехода в покоящееся (стареющее) состояние (см. главу 10), а в результате и нашей смерти. В самом деле, утрата этими клетками своей главной функции приведет к постепенной дегенерации тканей из-за утраты их способности к обновлению.

Короче говоря, по моим расчетам, делеция гена теломеразы по всему организму должна примерно через 10 лет привести к его гибели.

Но погодите – вспомнил я – SENS уже предлагает решать проблему “нормальной” возрастной дегенерации тканей с помощью пересадки стволовых клеток. Нужно только использовать для этого клетки, принципиально не способные к удлинению теломер, т.е. к раковому перерождению. А создание такого безопасного трансплантационного материала – задача генных инженеров.

Очевидно, эти стволовые клетки тоже со временем перестанут делиться (когда израсходуются их теломеры), но речь идет о стандартной ситуации, характерной для любого процесса старения. Биоинженеры знают, что для избавления организма от страданий и смерти, связанных с возрастной дегенерацией тканей, вовсе не обязательно бороться с малейшими признаками клеточных и молекулярных дефектов. Ими в некоторой степени поражено даже тело двадцатилетнего человека, и с каждым днем жизни уровень

такого поражения возрастает. Однако найти серьезную разницу в здоровье следующих за собой людей 25 и 35 лет затруднительно – в этих хронологических пределах количество возрастных дефектов еще не достигает порога, за которым начинаются функциональные нарушения. Пока мы удерживаемся на этом уровне, мы остаемся биологически юными. Значит, используя для пересадки стволовые клетки с достаточно длинными теломерами (и без гена теломеразы), можно позволять им со временем теряться за счет старения, апоптоза и различных повреждений, а потом просто пополнять ткани очередной партией таких же клеток, не дожидаясь, когда функция данной ткани ухудшится. Необходимость в регулярных терапевтических вмешательствах в этом случае – ситуация, аналогичная периодическим приемам расщепляющих КПП агентов или очисткам организма от анергических Т-клонов. Пропустив прием любого лекарства, вы рискуете столкнуться с неприятными последствиями. Соблюдайте график противовозрастных процедур, и будете бесконечно долго оставаться молодыми и здоровыми.

Последний совет особенно важен в случае моего способа защиты от рака, поскольку, чтобы избежать смерти от бесконтрольного размножения его клеток, нам необходимо опасное для жизни “повреждение” всего организма (делеция гена теломеры). Значит, надо точно определить срок службы каждого типа клеток и своевременно обеспечивать их замену. Иначе неизбежны проблемы, о которых лучше даже не задумываться.

Фактически же делеция гена теломеразы, ограничивая число делений наших стволовых (и образуемых ими зрелых) клеток, приносит нам дополнительную противораковую и противовозрастную пользу. Несмотря на широко распространенное мнение о том, что возрастные мутации ДНК возникают главным образом в результате ее повреждения внешними агентами типа свободных радикалов, радиации и мутагенных химикатов, на самом деле в большинстве случаев это следствие ошибок при копировании генетической информации при клеточном делении. Кроме того, хотя данный факт в популярной литературе почти никогда не упоминается, источником рака обычно становятся не зрелые, а стволовые клетки с регулярными делениями и активным теломеразным геном, т.е. наиболее уязвимые для поломки тормозов, сдерживающих бесконтрольную пролиферацию²⁸. (Собственно говоря, именно осознание этого в 2001 и привело меня затем к формулировке концепции ЗУТВТ.) Ограничив количество делений наших стволовых клеток до их гибели, мы снижаем количество потенциально накапливаемых ими мутаций, а, следовательно, и риск появления их сочетания, вызывающего злокачественное перерождение.

Это был бы сокрушительный удар по раку. Ни одна опухоль отныне не достигала бы клинически значимой стадии. В худшем случае могли бы воз-

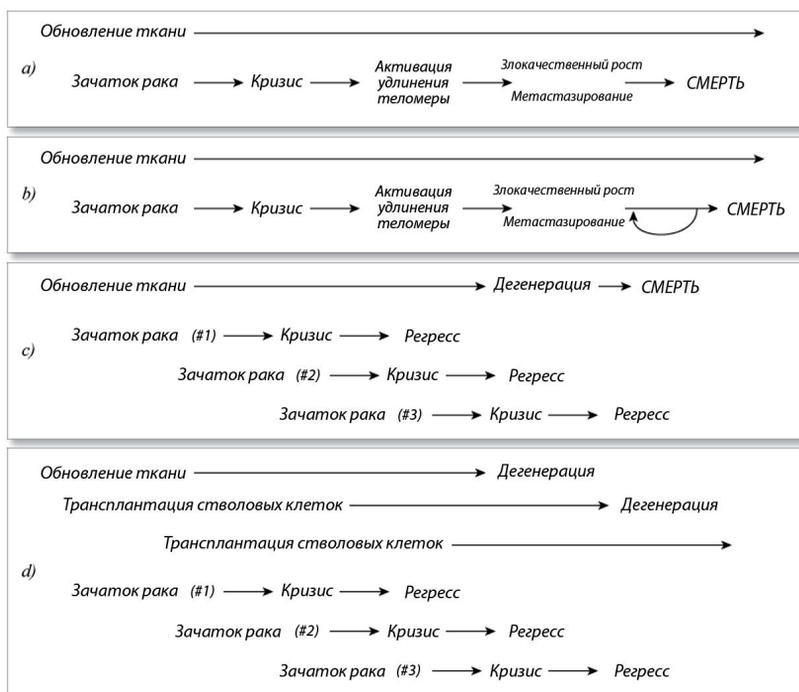


Рисунок 1. Влияние на прогноз рака его традиционного лечения (на поздней стадии) (Б), делеции гена теломеразы (В) и делеции гена теломеразы с пересадками стволовых клеток (Г).

никать небольшие, остановившиеся в росте скопления аномальных клеток, причиняющие нам не больше неприятностей, чем маленькие кисты или бородавки. А наши нормальные ткани оставались бы практически интактными при условии их регулярного обновления стволовыми клетками (см. **Рисунок 1**).

☞ Так безумно, что может сработать

Не скрою, впервые услышав о концепции ЗУТВТ, практически все мои коллеги сочли ее абсолютно бредовой. По правде говоря, и я сам, хотя и не сомневался в своем психическом здоровье, поначалу побаивался, что недоучел какого-нибудь опасного для жизни побочного эффекта такого необычного “двойного удара” по организму. Поэтому я стал консультироваться с

экспертами, работающим по всем смежным тематикам, включая биологию теломер, мутантных людей, мышей без функциональных генов теломеразы, механизм АУТ, стволовые клетки, пересадку костного мозга и, конечно же, рак как болезнь, а не только результат сохранения теломер. Я искал подтверждения тому, что мои факты верны и не упущено ничего существенного, а также интересовался мнением специалистов относительно технических проблем, которые возникнут при разработке необходимых для внедрения ЗУТВТ биотехнологических методов.

Их реакция была показательной и типичной для моего опыта общения с экспертами при обсуждении различных междисциплинарных проектов. Ознакомившись с предлагаемой мною схемой, каждый из них называл ее в лучшем случае смелой, а в худшем – результатом увлечения научной фантастикой. Однако, к моему некоторому удивлению, когда я просил их оценить реальность и примерные сроки разработки отдельных компонентов ЗУТВТ в хорошо известной им области, все считали задачу вполне выполнимой (хотя и амбициозной), т.е. не видели на пути к поставленной мною цели никаких непреодолимых препятствий. Общий вывод о бредовости моей идеи эксперты делали, предполагая неразрешимость связанных с нею проблем в тех областях, с которыми не были непосредственно связаны.

Воодушевленный этими дискуссиями, я организовал третью конференцию по SENS, специально посвященную ЗУТВТ, пригласив многих упомянутых выше консультантов. Как и в 2000, моей целью было собрать вместе специалистов в разных областях знаний и заставить их общими усилиями искать путь к цели (или доказательства его отсутствия), разрабатывая необходимый для этого комплексный подход и демонстрируя друг другу (как я надеялся) осуществимость каждого из его элементов.

К моему огромному удовлетворению, данная задача была полностью выполнена, и результаты конференции мы опубликовали в “Анналах Нью-Йоркской академии наук”²⁹. Из всех приглашенных за круглый стол ученых только одна, не решившись рисковать своей репутацией, отказалась подписать нашу общую публикацию. Причины были весьма показательны, что мы отразили в одобренном ею разделе “Благодарности”. Доктор Никола Ройл, старший преподаватель факультета генетики Лестерского университета, специалист по теломерам (и особенно по механизму АУТ), настаивала на отзыве своей подписи не потому, что не верила в осуществимость ЗУТВТ – напротив, она очень боялась его практической реализации. Она понимала: ничто не препятствует разработке этого метода окончательной победы над раком, а значит, в совокупности с прочими элементами SENS, – полностью избавлению человечества от возрастной дегенерации. ЗУТВТ обещает нам теоретически бесконечно долгую и здоровую жизнь, а именно ее не го-

това была принять доктор Ройл. Свойственный и многим другим, ее непреодолимый (и, на мой взгляд, необоснованный) страх перед потенциально отрицательным влиянием неограниченного долголетия людей на окружающую среду и существующие социальные структуры был так велик, что она не желала участвовать в дальнейшей разработке ни одного из относящегося к SENS методов³⁰.

Давайте теперь рассмотрим технические проблемы, обсуждавшиеся на этом круглом столе – и, естественно, в ходе дальнейших встреч с его участниками и другими специалистами³¹.

☞ Что будет, если убрать теломеразу

Одно из них очевидно. Речь идет об удалении гена, который как минимум присутствует во всех наших клетках, хотя постоянно отключен в тканях, где они прекратили делиться, например мускулатуры, сердца и головного мозга. По крайней мере, для них утрата такого гена (точнее говоря, любого из пары генов, кодирующих теломеразу, поскольку она состоит из двух субъединиц) не будет сопряжена с какими-либо проблемами. Однако теломераза синтезируется и используется (строго контролируемо) многими другими клетками, которым необходимо регулярное деление, прежде всего стволовыми. К чему приведет утрата ими этого фермента?

К счастью, тут мы можем ориентироваться на надежные данные, полученные на двух моделях: мышах, лишенных методами генной инженерии одной из двух субъединиц теломеразы, и людях с генетической патологией, называемой врожденным дискератозом (ВДК). Картина вырисовывается весьма оптимистическая.

В отличие от людей мыши рождаются с такими длинными теломерами, что на протяжении всей жизни в теломеразе не нуждаются (это, вообще говоря, делает их очень неудобной моделью для изучения человеческого рака), хотя она и работает. В результате, лишившись этого фермента, они могут передавать свои постепенно укорачивающиеся теломеры нескольким поколениям потомков без каких-либо последствий для их здоровья. В конце концов, появляются симптомы, связанные с отсутствием стволовых клеток, прежде всего в интенсивно обновляющихся тканях. Животные становятся стерильными (прекращается выработка сперматозоидов), их кожа и пищеварительная слизистая истончаются и снижают прочность.

Как ни парадоксально, у них развивается множество раковых опухолей, что на первый взгляд, кажется откровенным плевок в лицо всей моей концепции. Однако это лишь одно из свидетельств ограниченной пригодности мышей для моделирования человеческой онкологии. Во-первых, хотя

их теломеры достаточно коротки для подавления пролиферации стволовых клеток, их длины все же хватает для опасного ракового роста. Просто сами мыши настолько невелики, что опухоли, слишком мелкие для клинических проявлений у человека, могут мешать работе их органов и расходовать недопустимо много жизненно важных ресурсов организма. Во-вторых, у этих животных сравнительно легко активируется АУТ, т.е. отсутствие теломеразы не гарантирует им неспособности восстанавливать теломеры. Впрочем, хитроумное сочетание делеции гена теломеразы с другими мутациями может во многом сгладить данные различия между людьми и мышами, а в такой ситуации^{32,33} риск рака у последних резко снижается. В одном случае ни одно из животных без теломеразы не умерло от этой болезни к тому сроку, когда погибли все особи той же линии, у которых этот фермент работал.

Пациенты с ВДК, несмотря на свое отчаянное положение, тоже позволяют всем нам надеяться на лучшее. Эффективному функционированию их теломеразы мешают разные мутации – в генах, кодирующих и сам фермент, и другие белки, необходимые для его нормальной работы. Однако слабая теломеразная активность у них сохраняется. Возможная причина отсутствия людей с полным отключением генов этого фермента – необходимость в гораздо большем, чем у мышей, количестве внутриматочных клеточных делений (при более коротких теломерах при зачатии): в результате плоды с более серьезными повреждениями, скорее всего, самопроизвольно абортируются.

Тем не менее, теломеразная активность при ВДК очень низка. В результате их теломеры короче, чем в норме, и развиваются вполне ожидаемые симптомы, сходные с наблюдаемыми у лишенных теломеразы мышей: пятнистый или сетчатый узор на коже; участки аномальных, утолщенных белых клеток на слизистых оболочках, примерно такие же, как у многолетних курильщиков; ломкие, тонкие ногти с гребнями и трещинами; недостаточность костного мозга, приводящая к проблемам с иммунитетом, свертываемостью крови и поступлением в ткани железа и кислорода³⁴.

Раньше считалось, что самые тяжелые симптомы ВДК обычно наблюдаются между 10 и 30 годами, однако, как впоследствии выяснилось, не все так просто. Причины разного течения этой болезни оказались очень для нас важными. Доктор Индерджита Докала, много работающий с больными ВДК в гематологическом отделении Имперского колледжа в Лондоне, сказал на памятном саммите по ЗУТВТ в 2002, что, по его наблюдениям, у первого поколения пациентов с вариантом ВДК, вызываемым мутацией в одной из копий гена теломеразы, симптомы развиваются только к пятому десятку. Однако по мере передачи укороченных теломер их детям и внукам клиническая картина проявляется все раньше и раньше. Позднее эти предваритель-

ные данные были подтверждены доктором Докала и его коллегами в специальных исследованиях нескольких семей с отягощенной ВДК наследственностью^{35,36}.

Следовательно, подтверждается мое исходное предположение: причина симптомов не в отсутствии теломеразы, а в достижении пороговой длины теломеры. Вывод оптимистический, поскольку он подразумевает именно то, на что я надеялся: мы сможем периодически обновлять костномозговые и другие запасы стволовых клеток их аналогами – с теломерами, длина которых намного превышает критическую. Это позволит нам не только лечить ВДК, но и избегать других проблем со здоровьем у людей с преднамеренно заблокированной теломеразой. В самом деле, на сегодняшний день лучшая помощь пациентам с ВДК – пересадка костного мозга, т.е. новых стволовых клеток, полученных от здоровых доноров, взамен израсходованных.

☞ Периодическое пополнение запасов стволовых клеток

КОСТНЫЙ МОЗГ

Его пересадка уже стала широко распространенной и почти рутинной процедурой не только при ВДК, но и в случае разнообразных болезней крови, раковых пациентов, чей костный мозг пострадал в результате лучевой терапии, и многих других патологий. Однако у реципиентов до сих пор возникает много осложнений, и на пути к использованию этого метода в сочетании с ЗУТВТ нам еще предстоит решить многие технические проблемы.

Одна из причин того, что трансплантаты костного мозга часто не приживаются, - его слабое встраивание в полости губчатого вещества костей, где еще остаются исходные стволовые клетки. Вероятно, для их уничтожения перед первым раундом такой пересадки после ЗУТВТ нам придется использовать химиотерапию. Впрочем, к ней в любом случае желательно прибегнуть, чтобы свести к минимуму риск рака, связанный с присутствием в организме старых клеток с функциональной теломеразой. Следующие пересадки будут проще, поскольку мы будем специально дожидаться, когда предыдущие трансплантаты начнут отмирать (из-за утраты теломер), и лишь потом проводить их замену.

Насколько часто придется обновлять костномозговые клетки? Перспективы обнадеживают. Средняя продолжительность периода между делениями кроветворных стволовых клеток измерена в экспериментах: она не менее двух месяцев. Чтобы человеческие клетки без теломеразы начали ощущать укорочение своей теломеры, требуется примерно полсотни делений.

При названной их частоте пересадки костного мозга можно будет производить где-то раз в десятилетие, не испытывая между ними никаких нарушений кроветворной функции.

КОЖА

Широкий спрос на кожные трансплантаты для ожоговых пациентов, детей с врожденными уродствами и косметической хирургии обеспечивает удивительно быстрый прогресс в получении такого материала из стволовых клеток. Мы уже научились “обдирать” мышей до дермы (нижнего, толстого слоя кожи, в глубине которого находятся волосяные мешочки, потовые и сальные железы, кровеносные сосуды, нервы и т.п.), а потом полностью восстанавливать удаленный с нее эпидермис. Клетки нашей дермы делятся нерегулярно, так что об их теломерах можно не беспокоиться. Периодическое обновление стволовых клеток будет необходимо только поверхностному слою кожи, эпидермису. Интересно, что исходный материал для этого можно брать из таких разных мест, как роговица глаза и дерма. Его удастся быстро превращать в стволовые клетки волосяного мешочка, которые затем, размножаясь, распространяются во все стороны, давая пригодные для пересадки трансплантаты.

Опять же, исходя из известной частоты деления этих клеток (в норме), пересадки их после удаления гена теломеразы потребуются примерно раз в десятилетие. Поскольку кожа, так сказать, лежит на поверхности, эти операции при использовании ЗУТВТ будут относиться к самым простым и наименее инвазивным.

ЛЕГКИЕ

Внутренняя их выстилка, как эпидермис и пищеварительная слизистая, постоянно слущивается и обновляется. Неудивительно, что легочные осложнения – одна из главных причин смертности при ВДК. Важность для нас и относительно высокая доступность органов дыхания позволяют надеяться на быстрое развитие достаточно безболезненных методов терапевтического обновления их клеток – когда ученые всерьез над этим задумаются. В самом деле, такие пересадки уже проводятся, главным образом при ведении пациентов с муковисцидозом. Более того, по последним оценкам, легочные стволовые клетки делятся значительно реже, чем эпидермальные.

Разработанные на сегодняшний день методы пересадки сходны с применяемыми для кожи, но стволовые клетки в них пока не используются. И все же, прогресс налицо. На двух различных моделях иммунодефицитных мышей ученым удалось снять легочный эпителий до подстилающей его ба-

зальной мембраны, а потом заменить утраченную ткань модифицированными клетками, полученными из внутренней выстилки человеческих легких. Следующий шаг – использование стволовых клеток.

ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЙ ТРАКТ

Замена стволовых клеток в желудочно-кишечном тракте человека пока еще сталкивается с существенными проблемами. Первого серьезного успеха в этом направлении добился несколько лет назад доктор Ф. Чарльз Кэмпбелл, ныне профессор хирургии в Медицинской школе Королевского университета Белфаста. Его группа удалила слизистую с небольших участков ободочной кишки мыши, а потом засеяла эти места ее же кишечными стволовыми клетками, которые нужным образом дифференцировались, дав полностью функциональную ткань. Однако с тех пор заметного прогресса не наблюдается. На саммите по ЗУТВТ Кэмпбелл рассказал о никогда не публиковавшихся результатах работы его группы со свиньями. Использование того же метода, что и в случае упоминавшихся выше мышей, привело к развитию массы дисфункциональной рубцовой ткани. Вместе с тем, другая группа, работавшая с собаками, добилась очень хороших результатов³⁷ и усовершенствовала свою методику на мышах и крысах.

Работы впереди еще много. Не последняя трудность связана с тем, что при ЗУТВТ вскрытие участков пищеварительного тракта для замены старых клеток новыми – слишком инвазивное для человека вмешательство. Более реалистичный вариант – эндоскопия, аналогичная применяемой сейчас для удаления из толстой кишки потенциально раковых полипов. Вероятно, через пару десятилетий, когда этот метод потребуется для нашей борьбы со старением, он станет намного совершеннее.

Важный вопрос – насколько часто придется пересаживать в пищеварительный тракт стволовые клетки. Прежние оценки наводили на мысль о гораздо более коротких, чем в случае других тканей, промежутках между такими операциями – порядка нескольких месяцев. К счастью, эти расчеты наверняка ошибочны. Если бы пищеварительная слизистая по темпам деления стволовых клеток намного опережала костный мозг или кожу, кишечная недостаточность у больных ВДК и мышей без теломеразы наступала бы в первую очередь, однако этого обычно не наблюдается. У каждого конкретного индивида работа всех этих тканей нарушается более или менее одновременно, а точнее говоря, у людей проблемы чаще всего начинаются с кроветворной системы. Именно поэтому временную пользу больным приносят пересадки костного мозга. Как бы там ни было, замена стволовых клеток пищеварительного тракта потребует более инвазивного вмешательства.

ОСТАЛЬНОЕ ТЕЛО

Прочие наши структуры в смысле старения напоминают дерму: их клетки делятся от случая к случаю. Некоторые типы этих клеток (например, образующие дерму фибробласты) находятся в покоящемся состоянии: они могут делиться, но делают это лишь в особых ситуациях, например при заживлении ран. Другие – постмитотические – принципиально не способны к делению. Их обновление, если и происходит, то за счет клеток-предшественниц.

С постмитотическими клетками при нашем подходе к лечению рака проблем, очевидно, не будет, а о покоящихся стоит немного подумать. Они не особо страдают при ВДК и у нокаутных по теломеразе мышей, а также сравнительно редко дают рак, следовательно, у нас больше времени для разработки способов их замены, которую в любом случае, скорее всего, придется проводить очень редко (в отличие от более прицельных обновлений, связанных с “нормальными” возрастными и патологическими потерями клеток и применением ЭСК, т.е. с проблемой, обсуждавшейся в главе 11).

Однако именно из-за того, что эти клетки не делятся, они надолго сохраняются в организме и время от времени становятся раковыми. Следовательно, надо обеспечить максимальную защиту от такой возможности. Удаление стареющих клеток существенно снизит и без того низкий онкологический риск для этих тканей, но он все-таки сохранится.

Возможное решение – прицельная делеция генов. Это серьезная проблема, поскольку даже у мышей (для них генная терапия - уже рутина) очень трудно провести точную делецию или вставку (инсерцию) участка ДНК в клетках, находящихся внутри организма (в отличие от введения генов в сперматозоиды, яйцеклетки, эмбрионы или в извлеченные из животного, модифицированные и пересаженные клетки). Однако биоинженерия не стоит на месте. Большие надежды связываются с применением этой методики для генной терапии в целом, а значит, потенциально ее можно использовать и для устранения способности к удлинению теломер в тканях, которые не обновляются с помощью стволовых клеток. В любом случае на протяжении периода между компенсацией возрастных потерь с помощью стволовых клеток, лишенных гена теломеразы, и окончательной заменой ими исходных стволовых клеток рассматриваемых тканей, нам придется шаг за шагом применять метод ЗУТВТ к отдельным их клеткам, снижая тем самым сохраняющийся риск ракового перерождения.

❧ Не связан ли ЗУТВТ с недооценкой эволюционных возможностей рака?

ЗУТВТ – очень сложная, многогранная проблема, причем, как уже говорилось, ее решения целиком зависит от правильности одного исходного постулата. Наши усилия окажутся напрасными, если раковые клетки найдут способ неограниченно размножаться без удаленных генов. Рассмотрим эту ситуацию поподробнее.

Теоретически клетки могут научиться копировать свои хромосомы без укорочения теломеры, т.е. не нуждаясь в удлиняющем ее ферменте. Гипотетически к этому способны некоторые стволовые клетки. Обычно каждое их деление дает дочернюю стволовую клетку, идентичную материнской, и так называемую *амплифицирующуюся* клетку, которая начинает дифференцировку, специализируясь на выполнении определенной функции. (Фактически такая картина и вкладывается большинством людей в определение стволовых клеток.) В принципе, хитроумная система контролируемого распределения нитей ДНК между дочерней стволовой и амплифицирующейся клетками могла бы остановить укорочение этой молекулы. Однако такая ситуация не представляет онкогенной опасности, поскольку подразумевает линейный, а не экспоненциальный, как при раке, рост числа клеток. Это значит, что опухоль, если и возникнет, станет достаточно крупной и смертоносной лишь спустя тысячелетия.

Еще один не связанный с укорочением теломер способ репликации используют бактерии и наши собственные митохондрии. У них вообще нет теломер! Бактериальная и митохондриальная ДНК кольцевая, так что проблем с копированием ее конца не возникает. Однако, похоже, нашим ядерным хромосомам канцерогенное “кольцевание” не угрожает. Когда теломеры становятся слишком короткими, механизм репарации ДНК путает соответствующие им концы хромосом с участками их разрывов. В результате клетка, нацеленная на устранение таких повреждений, соединяет эти концы, создавая двойные хромосомы. Услуга поистине медвежья, поскольку при следующем клеточном делении контролирующийся его механизм разрезает их – в случайном месте, нарушая строение генов и делая их дисфункциональными.

К сожалению, следующая возможность более реальна. Я уже неоднократно упоминал ее: речь идет о раковых клетках, восстанавливающих свои теломеры с помощью не теломеразы, а других ферментов. Они еще не идентифицированы, поэтому такая система называется просто альтернативным удлинением теломер (АУТ). Хорошая новость в том, что используется она достаточно редко: в большинстве тканей почти никогда не наблюдается, а

в остальных, очень немногих, встречается не более чем в половине опухолей. Следовательно, для ее активации необходимо как минимум столько же мутаций, сколько и для активации теломеразы, т.е. АУТ, скорее всего, требует включения генов, которые в норме надежно заблокированы, а не просто отключения работающих. Это хорошая новость для программы ЗУТВТ, поскольку (если, конечно, наше предположение верно), она означает, что, идентифицировав необходимый для АУТ ген, мы сможем устранить его, как и ген теломеразы. Естественно, не исключены аналогичные побочные эффекты, но связанные с ними проблемы, как и при избавлении от теломеразы, в принципе решаются с помощью стволовых клеток и других методов регенеративной терапии.

ПОБОЧНЫЙ ЭФФЕКТ: ЗУТВТ И ФЕРТИЛЬНОСТЬ



Один из потенциальных побочных эффектов устранения теломеразы из всех наших клеток – наступление со временем мужской стерильности. Если деторождение сохранит нынешнюю актуальность в будущем, вечно молодом мире, мужчины смогут заблаговременно замораживать свою сперму. Этот способ уже широко применяется сейчас для нужд ЭКО. Следовательно, единственной репродуктивной проблемой будет отсутствие необходимости в собственно половом акте. На потребности в нем ЗУТВТ не отразится.

ЧАСТЬ ТРЕТЬЯ



13

ОТ СЛОВ К ДЕЛУ: ВОЙНА ПРОТИВ
СТАРЕНИЯ

✎ В НАШЕЙ КНИГЕ С МАКСИМАЛЬНО ВОЗМОЖНОЙ доступностью для широкого читателя рассмотрены биологические детали человеческого старения и вполне реалистичные подходы к победе над этим процессом. Однако из всего до сих пор изложенного вы, на первый взгляд, в полном праве сделать всего лишь такой вывод: когда-нибудь появятся терапевтические методы, способные несколько отсрочить старение. Возможно, вы полагаете, что обнадеживающие результаты на мышах ученые получают, действительно, лет через десять, но затем возникнут новые проблемы типа переговоров со сверхосторожным американским Агентством по контролю качества пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств (FDA), и противозрастные испытания на людях начнутся еще не скоро. И если я с 50%-ой вероятностью прогнозирую внедрение широкодоступного лечения возрастной дегенерации уже в ближайшие десятилетия, вы, вероятно, склонны больше доверять срокам, которые будут раза в три дольше. Вы также вправе скептически относиться к масштабам продления жизни, практически достижимым – даже в такой отдаленной перспективе – с использованием описанных в предыдущих семи главах подходов. Конечно, скажете вы, теоретически они принесут огромную пользу, если будут работать безупречно, избавляя наш организм от различных возрастных повреждений, однако

всем известно, что никакая терапия не идеальна, особенно на ранней стадии своего применения. Скорее всего, мое заявление о реальной возможности уже для многих живущих сейчас людей отпраздновать свое тысячелетие заставляет вас считать меня в лучшем случае увлекшимся мечтателем. И вы совершенно правы в своих сомнениях. Поэтому ниже я не собираюсь больше углубляться в научные детали, и уделю основное внимание вашим вполне обоснованным тревогам. Я начну с временных рамок широкомасштабного внедрения описанных в этой книге терапевтических подходов.

Один из специфических этапов на пути к безвозрастному будущему я называю “войной против старения”. Речь идет о периоде, который начнется с выхода человечества из нынешнего пораженческого транса и закончится широкой доступностью методов, способных на несколько десятилетий продлить жизнь тех, кто к тому времени достигнет среднего возраста. Сначала я объясню, почему, собственно, использовал термин “война против старения”, а потом – на чем основана моя уверенность, что эта битва продлится всего лишь лет 15-20.

“Провозрастной” настрой современного общества - “рациональная иррациональность” во взглядах на старение, описанию и критике которой посвящена гл.2, капитулирует только тогда, когда ее призывы к здравому смыслу не смогут больше противостоять даже простейшим, понятным большинству людей аргументам. На мой взгляд, для этого ученые должны получить лабораторные результаты (в основном, вероятно, на мышах), которые окажутся достаточно убедительными для основной массы биogerонтологов и заставят их публично признать, что продление человеческой молодости как минимум на несколько десятилетий – всего лишь вопрос времени. Наука очень похожа на религию: вера нескольких энтузиастов – опасная ересь, всеобщий консенсус – священное питание. В данном конкретном случае результат, который я считаю необходимым для превращения первого во второе, должен быть чем-нибудь вроде “стойкого мышино омоложения” (СМО).

Речь идет о стабильном продлении жизни грызунов, отвечающем четко определенным критериям. Именно такой результат сможет заставить научный мир отказаться, наконец, от параноидальной боязни заглядывать в будущее. Главное – не оставить ему лазейки для сомнений. В связи с этим, согласно моему определению, СМО означает следующее:

- минимум 20 домашних мышей (вид *Mus musculus*)
- из линии со средней естественной продолжительностью жизни не менее трех лет,
- начиная минимум с двухлетнего возраста, получают определенное лечение
- и живут в среднем по пять лет, оставаясь, весь этот период практически здоровыми.

Перед тем как обнародовать это определение, я хорошенько его обдумал, и, похоже, оно выдержало проверку временем. Никто не усомнился, что такой результат может быть достигнут только способами, которые убедят самых упорных скептиков в появлении революционного подхода, потенциально применимого и к нашему с вами виду. Требование использовать не менее 20 мышей исключает ошибки, связанные с разбросом в продолжительности жизни и случайными неточностями в записях. Домовую мышь я выбрал потому, что другие подопытные животные исходно долговечнее и хуже “освоены” экспериментаторами. Линия со средней продолжительностью жизни не менее трех лет (необычно много для данного вида) исключает присутствие специфических врожденных проблем, обычно убивающих грызунов еще в молодости. В противном случае наше лечение могло бы попросту облегчать эти патологии, добавляя животным лет, но не влияя собственно на процессы старения. Ну и, наконец, начало его только по истечении двух третей срока, отпущенного мышам природой, означало бы потенциальную ценность наших методов для людей, которые уже читают газеты, платят налоги – и голосуют.

Причины, по которым я называю период, начинающийся с достижения СМО, именно “войной против старения”, связаны с ожидаемой мною исходной, практически немедленной реакцией общества на мою программу противозрастной терапии. Для характеристики этой реакции надо прежде всего остановиться на одном из побочных эффектов “провозрастной” психологии, который определяет нынешнюю неготовность людей всерьез бороться с собственным старением. Я придумал ему специальное название: треугольный затор (см. **Рисунок 1**).

Экспериментальная биология, как и любая другая область науки, требует денег – очень больших денег. Она, конечно, не сравнится по затратности с физикой или астрономией, но достаточно дорогостояща, чтобы ученые тратили огромную часть своего времени на выбивание необходимых им средств. Источник подавляющего большинства фондов, выделяемых экспериментальной биологии – госбюджет.

Биогеронтология полностью соответствует такой характеристике, но почти уникальна с одной точки зрения: она крайне популярна у широкой публики. Специалисты в этой области постоянно мелькают на телеэкране – я не преувеличиваю: постоянно! Такую разницу между ней и другими биологическими, в том числе весьма уважаемыми медицинскими дисциплинами, невозможно не заметить: даже начинающий биогеронтолог привлекает больше внимания СМИ, чем мировые авторитеты в прочих областях знаний. Естественно, как только предоставляется возможность, биогеронтологи, как и любые другие ученые, рассказывают о своих планах, которые, очевидно, должны быть такими, чтобы их захотели финансировать.

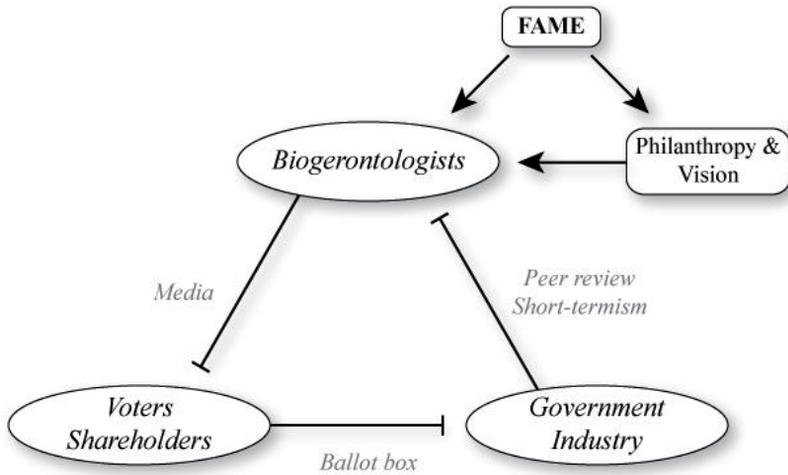


Рисунок 1. Треугольный затор и возможность взорвать его, опираясь на поддержку общественного мнения.

А о чем еще распространяться в СМИ биогеронтологу? Представьте себе, что он говорит о направлении исследований, которое в глазах общественности выглядит явно подозрительным, даже бредовым, например, о победе над старостью. В чем привлекательность таких интервью? Скандальная известность гарантирована, повышенное внимание журналистов тоже. А что дальше? Для чего ученому внимание СМИ? Как уже говорилось, исследователи крайне озабочены такой унижительной проблемой, как поиск средств для своих лабораторий. Каким образом может способствовать – или вредить – этому поднятая СМИ шумиха?

Чтобы вы поняли ответ на этот вопрос, я должен в общих чертах объяснить механизм государственного финансирования науки. Когда ученый хочет провести определенную серию экспериментов, он подробно описывает, для чего это нужно, сколько займет времени, сколько будет стоить, и отправляет свое сочинение, т.е. заявку на грант, компетентному правительственному агентству. Однако вопрос о выделении требуемых средств решается этим агентством не в одиночку. Конечно, распределением грантов занимаются там опытные эксперты, сами бывшие исследователи, однако они не могут быть хорошими специалистами во всех научных областях, финансированием которых заведуют, и далеко не всегда способны отличить пер-

спективную идею от сумасбродного прожекта. В результате они обращаются за консультацией к более узким специалистам. Это называется рецензированием заявки и является обязательным этапом на пути к выделению государственного гранта.

Просьба оценить перспективность исследований своих коллег – огромная честь и ответственность. Начинающим исследователям такого почти никогда не поручают. Главные рецензенты – маститые, пожилые ученые.

Вы еще не поняли, в чем проблема?

Наука – это формулировка, проверка и уточнение гипотез, становящихся в результате теориями. В принципе, главное достоинство ученого – его способность объективно анализировать и признавать свидетельства, бросающие вызов концепциям, в которые он свято верил долгие годы, если не десятилетия. Однако ученые всего лишь люди. Более того, они прекрасно знают, что их коллегам тоже не чуждо ничто человеческое. В частности, в научном мире всем известно: если публикуются данные, опровергающие устоявшиеся представления, попозже обычно оказывается, что это результат экспериментальной ошибки, а то и подтасовки. Особенно трудно отстаивать правильность своих нетрадиционных взглядов, даже подкрепленных неопровержимыми аргументами, если перед тобой маститый, много повидавший на своем веку профессор. Гениальный физик Макс Планк афористично заметил в 1920-х: “Наука движется не от открытия к открытию, а от похорон к похоронам”. Это не преувеличение. Для признания действительно фундаментальных изменений в сложившихся концепциях ученому миру требуется не менее, а обычно и намного более десятилетия. Показательный пример в биологии – механизм работы митохондрий, клеточных органелл, о которых много говорилось в этой книге¹. А инстинктивное неприятие новых идей старыми учеными неизбежно отражается на их подходе к рецензированию заявок на гранты.

Особой проблемы, как будто, нет. В конце концов, скепсис в отношении новых теорий, возможно, еще не до конца продуманных самими авторами, отнюдь не вреден. Хуже, если ученый мир станет с распростертыми объятиями бросаться навстречу каждой свежей идее, поскольку, как уже говорилось, они слишком часто оказываются пустышками. Однако инерция научного мышления обычно слишком сильна, чтобы гарантировать золотую середину. И, к сожалению, речь идет о влиянии не только сложившихся представлений, но и устоявшихся репутаций. Ученые, которым правительство доверяет рецензирование заявок на гранты – это, по определению, представители академического истеблишмента. Если за один грант конкурируют две направленные на рецензирование заявки одинаковой научной ценности, но одну из них составил бунтарь, известный своими призывами от-

казаться от устаревших догм, а другую – конформист, никогда в жизни не бросавший вызов авторитетам, можно быть уверенным: деньги получит последний.

И это еще не все. Рецензенты, естественно, получают ценные указания, относительно того, на какие достоинства и недостатки заявок обращать особое внимание. В этом списке, если не первое, то одно из важнейших мест отводится критерию осуществимости, т.е. вероятности завершения предлагаемой экспериментальной программы в указанные сроки и на запрашиваемые деньги с получением результатов, достойных публикации в солидном научном издании. Звучит вполне логично, не правда ли? Однако на деле речь идет об огромной проблеме, потому что на практике осуществимость исследования далеко не всегда уравнивается его научной ценностью. Поясняю: работа, которая почти наверняка даст пригодные для публикации результаты, в глазах рецензента выглядит намного предпочтительнее эксперимента с проблематичным исходом, даже если его неудача, не говоря уже о возможном успехе, намного важнее для дальнейшего развития этой области знаний. Иными словами, во всей науке и особенно в биogerонтологии господствует тяга к минимальному риску с мизерным выигрышем и не в чести, так сказать, любители пить шампанское.

Похоже, я достаточно гневно обличил ретроградство и близорукость академического истеблишмента, но надеюсь, предыдущие параграфы убедили вас также, что проблема не только в поросших мохом рецензентах. Во многом виноваты те, кто им платит, т.е. государственные агентства, ведающие финансированием науки, читай – правительство. Рецензенты, как правило, тоже подают заявки на гранты (и, естественно, не сами их рассматривают). Следовательно, если государственные агентства дают понять – прямо, путем писаных инструкций, или косвенно, всеми своими действиями и замечаниями “не для печати” – что предпочитают финансировать исследователей, следующих проторенной колеей и гарантирующих скромные, но надежные результаты, а отнюдь не авантюристов, обещающих нечто неслыханное, но, возможно, недостижимое, по крайней мере, в ближайшем будущем, мнение рецензентов становится легко предсказуемым. Конечно, чисто теоретически ученые мужи должны бы игнорировать любые “ЦУ” свыше, но бесполезно требовать от них слишком многого.

А вообще-то, ... и правительство тут не при чем. Во всем виноваты вы, дорогие читатели. Вряд ли для вас секрет, что в конечном итоге главная цель властей во всех демократических странах – переизбрание. А это проблематично, если, по мнению широкой общественности, правительство пускает деньги налогоплательщиков на ветер, в частности – на весьма сомнительные в смысле практических результатов исследования. Если бы избирате-

ли были достаточно научно зрелыми и понимали, что такая экономия здорово тормозит дальнейший прогресс человечества, их представители во властных структурах проявили бы не меньшую проницательность и дали бы соответствующие указания рецензентам. Однако большинство обывателей плохо понимают, как развивается наука, поэтому картина прямо противоположная. (Аналогичная, даже более серьезная ситуация складывается в медицине, но на ней я остановлюсь несколько ниже.) Причина понятна: оценить, насколько правдоподобна гипотеза или, скажем, приведет ли эксперимент к существенному расширению наших знаний, а значит, и будущих возможностей, в принципе очень трудно, даже для хорошего специалиста.

Однако в биogerонтологии потенциально существует выход из этого тупика, и здесь я возвращаясь к тому, с чего начал, т.е. к ее важному отличию от всех других областей науки – огромному интересу, который она вызывает у широкой общественности. Нам не обязательно растолковывать обывателю достоинства самых фантастических наших экспериментов: как правило, достаточно просто сказать, что они очень важны для развития биogerонтологии. В случае большинства наук это вряд ли сработало бы, но когда речь идет о продлении молодости и здоровья каждого человека, дополнительных аргументов обычно не требуется. Тогда почему же, когда журналисты просят биogerонтологов поделиться своими планами, они так скромны в своих запросах? Об этом только что говорилось. Мы не хотим приобрести репутацию безответственных прожектеров, поскольку иначе рискуем лишиться средств на проведение даже самых многообещающих исследований.

Результат – пресловутый треугольный затор. Биogerонтологи перестраховываются в публичных выступлениях, чтобы не лишиться грантов, выдаваемых правительством. То в свою очередь перестраховывается, выбирая, кого и что финансировать, поскольку боится лишиться поддержки избирателей. А те даже не знают, какие планы вынашивают биogerонтологи, слишком осторожные в своих публичных выступлениях.

Я считаю, что для скорейшей победы над возрастом необходимо, прежде всего, взорвать этот треугольный затор. Как это сделать?

С тех пор как я занимаюсь биogerонтологией, я изо всех сил стараюсь сломать одну из вершин этого треугольника – настроение своих коллег, особенно маститых. Ученые, как уже говорилось, чутко прислушиваются к политикам, однако в своей массе они люди искренние и честные. Более того, и это очень важно, вряд ли хоть одному из биogerонтологов свойственна “провозрастная” психология. Все они прекрасно понимают, как ужасно старение, и почти единодушно – не меньше, чем я – мечтают с ним покончить. Далее, нас не так уж много: легко поддерживать личные контакты. Я уже не-

сколько лет знаком практически со всеми, кто работает в моей области. Наконец, это достаточно серьезные специалисты с научными степенями. Учитывая все вышесказанное, у меня неплохие шансы доказать своим коллегам: мы гораздо ближе к победе над возрастом, чем до сих пор считается. Более того, у меня неплохие шансы убедить их заявлять об этом публично – при любой возможности.

Короче, если не на прямую, то на косвенную поддержку я могу рассчитывать. Как и в любой жизненной ситуации, важно не только то, что говорят люди, но и о чем они помалкивают. Большинство моих коллег, детально ознакомившись с SENS, соглашалось: неясностей, конечно, много, но ничего завирального в этих планах не наблюдается. Увы, открытых публичных выступлений в пользу SENS пока не слышно. И все же я чувствую различные проявления молчаливой корпоративной поддержки. Во-первых, пятеро маститых биogerонтологов согласились выступить соавторами первой посвященной SENS статьи, обобщающей результаты проходившей в 2000 конференции (см. главу 4). Затем несколько моих видных коллег отказалось подписываться под организованной более зашоренными учеными критикой моей программы, опубликованной в уважаемом журнале “ЭМБО репортс” (“Доклады Европейской организации молекулярной биологии”)². Наконец, что весьма знаменательно, некоторые специалисты, все-таки подписавшиеся под этой статьей, впоследствии по собственной инициативе постарались от нее дистанцироваться, напечатав конструктивные отзывы на подходы SENS^{3,4}, обличавшиеся в пресловутых “Докладах”. Возможно, для стороннего наблюдателя такие демарши выглядят слишком робкими, но я вас уверяю: речь идет об одном из самых крутых поворотов в истории науки.

Конечно, этого недостаточно. Однако я вряд ли смогу добиться большего от биogerонтологов старшего поколения, пока не получу достаточно средств для широкомасштабного “раскручивания” исследований в рамках SENS, несмотря на всю их нетрадиционность. Поэтому некоторое время (надеюсь, недолго) мне придется долбить по другой вершине треугольника.

Вполне вероятно, правительство поддается и напрямую влиянию. В нем тоже хватает пронизательных людей, искренне желающих прогресса науки на благо всего человечества. Однако чтобы иметь серьезные шансы в законодательных собраниях различных стран, надо хорошо разбираться в настроениях главных игроков этой площадки. Тут за один день хорошим специалистом не станешь, поэтому я надеялся на помощь других профессионалов и сейчас с удовольствием убеждаюсь: посланный мною мяч начинают подбирать единомышленники и, прежде всего, недавно возникшее движение “Дивиденд долголетия” - блестящая инициатива, возглавляемая

ветераном-лоббистом Дэном Перри из Альянса за изучение старения вместе с тремя геронтологами⁵. Велики ли их шансы на успех, покажет время, но лично я от души желаю им удачи.

По мере роста моей собственной известности, у меня появилась возможность влиять и на третью вершину треугольного затора – общественное мнение. Если помните, я начал эту книгу с довольно сварливого замечания примерно такого характера: если бы не пресловутый “провозрастной” транс, в котором пребывает человечество, я смог бы в полную силу заняться научной разработкой противовозрастных методик. Тут все верно, однако, когда у меня, наконец, появился шанс быть услышанным, я стал расходовать на широкую пропаганду своих взглядов не меньше энергии, чем собственно на биоинженерные исследования. Дело в том, что я уверен: широкая общественность – важнейший источник как собственных средств для развития науки, так и давления на правительство, т.е., косвенно, нашего бюджетного финансирования.

Увы, “провозрастные” настроения пока еще в значительной мере определяют мои взаимоотношения со СМИ, а значит, и с общественностью. Основную часть отводимого для интервью времени приходится тратить на обсуждение не путей победы над старостью, а желательности борьбы с нею. Однако есть и хорошая новость. К счастью, как правило, если копнуть поглубже, главная причина озабоченности моих оппонентов – не категорическое неприятие ими SENS, а сомнения в ее осуществимости. Именно поэтому я убежден, что стойкое мышинное омоложение (СМО), о котором говорилось выше, станет сокрушительным ударом по господству нынешней “провозрастной” психологии.

☞ Интенсивность Войны против старения и ее возможная продолжительность

Чтобы нагляднее представить себе, каким может стать мир после осуществления СМО, давайте проанализируем основные эпидемиологические и биомедицинские данные по трем широко известным вирусам – ВИЧ, ЦМВ и птичьего гриппа – а потом рассмотрим интересный сценарий.

ВИЧ стал одним из главных наших убийц. Поздновато, но лекарства, подавляющие его размножение и предупреждающие развитие типичного СПИДа, постепенно становятся доступными даже в развивающихся странах. Этих медикаментов там пока явно не достаточно, но проблема с их количеством, вероятно, скоро решится. В развитых странах ВИЧ практически контролируется не хуже диабета. Можно жить с этим вирусом десятилетия без какой-либо симптоматики, регулярно используя дорогие, но (на За-

паде) вполне доступные лекарства. Для окончательной победы над ВИЧ не хватает двух вещей:

- способа полного избавления организма от вируса;
- вакцины, которая предупреждала бы заражение им.

ЦМВ (цитомегаловирус) нашей жизни, как будто, не угрожает, по крайней мере, явно. У людей с нормальной иммунной системой его активность полностью подавлена, и никакой симптоматики не наблюдается. (“Неявный” вред заключается в том, что постоянное подавление вируса ускоряет возрастное ослабление иммунитета, и люди становятся более восприимчивыми к тяжелым инфекциям типа пневмонии. В этом смысле ЦМВ косвенно опасен для жизни. Подробнее о причинах возникновения и путях решения данной проблемы говорится в главе 10.) Зато этот вирус невероятно широко распространен: по крайней мере, на Западе им инфицировано большинство населения.

Вирус птичьего гриппа к моменту написания этих строк (середина 2007) еще остается страшной новостью. Последние несколько лет нас мрачно предупреждают, что он может в любой момент мутировать в “человеческую” форму, которая вызовет пандемию, способную убить десятки, а то и сотни миллионов наших современников. Для этого необходимы лишь небольшие генетические изменения, обеспечивающие его передачу между людьми – такую же легкую, как у близкого по строению, хорошо нам знакомого (и, к счастью, гораздо менее смертельного) вируса обычного гриппа. Правда, такие мутации редки, но их вероятность нельзя считать пренебрежимо низкой. Вакцины против птичьего гриппа уже находятся в стадии разработки, но их эффективность пока непредсказуема: она будет зависеть от конкретных мутаций, которые приведут к “очеловечиванию” вируса. В любом случае, активная иммунизация слабатов помогает пожилым людям, а они являются основной группой риска. Так что смертность все равно подскочит.

Я привел эту информацию как основу для гипотетического сценария, который сейчас рассмотрю более детально, поскольку вижу в нем аналогию с ситуацией, ожидаемой после достижения СМО. Изложенные выше сведения помогут вам понять, что такой сценарий вполне реален. Надеюсь, моя аналогия тоже будет достаточно убедительной.

Давайте предположим, что ВИЧ мутировал так, что стал легко распространяться воздушно-капельным способом, как обычный грипп.

И все. Больше ничего не изменилось: лекарства против ВИЧ продолжают действовать (оставаясь очень дорогими), а профилактической вакцины до сих пор не разработано.

В такой ситуации через пару лет ВИЧ-инфекцию подхватят почти все жители нашей планеты. Естественно, не каждый заражается гриппом и при самой страшной пандемии, однако разница в том, что, если он не успевает вас убить, против его вируса развивается эффективная иммунная атака, которая полностью очищает организм от агрессора. Значит, любой больной остается заразным сравнительно недолго (а, выздоровев, некоторое время сохраняет невосприимчивость к гриппу). В случае ВИЧ от вируса избавиться невозможно, а его носитель всю жизнь распространяет инфекцию. Спрятаться от нее будет негде.

Апокалиптическая картина, не правда ли? (К счастью, по мнению вирусологов, вероятность такого сценария гораздо ниже, чем для “очеловечивания” птичьего гриппа.)

Но погодите – при чем тут Апокалипсис? У нас же такие лекарства...

Давайте еще раз обратимся к числам. По данным Бюро популяционной информации, носителем ВИЧ является каждый 250-й житель США: это примерно 1 млн. человек. Лекарственный контроль за инфекцией обходится каждому из них примерно в 30 000 долларов ежегодно. Значит, в сумме на борьбу с ВИЧ только в США за год уходит порядка 30 млрд. долларов. Если ВИЧ будет у каждого американца, речь пойдет приблизительно о 30 триллионах долларов – ежегодно. Правда, реальное производство необходимых лекарств стоит намного меньше: годовой курс соответствующих генериков, синтезируемых в Индии, стоит сейчас (включая прибыль) всего лишь 300 долларов, причем цена продолжает снижаться. Так что, тратя всего лишь 300 млрд. долларов в год (менее 1 млрд. в день), можно будет поддерживать здоровье всех жителей США в условиях поголовного распространения среди них ВИЧ-инфекции.

Предвижу ваши вопросы. Во-первых, многим может показаться, что в выражении “всего лишь 300 млрд. долларов в год” слова “всего лишь” не вполне уместны. Напомню: ровно столько США тратят сейчас на войну в Ираке. (Я не анализирую оправданность этих расходов – речь идет только о прецеденте неожиданных крупных затрат, которые отнюдь не банкротят нацию.) Во-вторых, вы вправе выступать против посягательства на права фирм, т.е. применения генериков вместо патентованных препаратов, а значит, не признаете возможности стократного удешевления медикаментов. Однако устоит ли нынешняя патентная система перед страхом ужасной смерти от СПИДа? Подумайте хорошенько. Допустим, мой гипотетический сценарий становится реальностью. Одна влиятельная партия выступает за введение подушного налога, равного 300 долларов в год: эти деньги пойдут на закупку предупреждающих СПИД генериков. Ее политические противники требуют взимать с каждого американца дополнительно 30 000 долларов ежегодно – или вообще отказаться от организованного распространения медикаментов. За кого вы отдадите свой голос?

Надеюсь, вы убедились: США вполне хвалит ресурсов на защиту от СПИДа всех своих граждан. Вероятно, найдутся средства и для адекватного снабжения лекарствами жителей развивающихся стран – учитывая нынешнюю тенденцию, которая в принципе приближает нас к этому идеалу.

Теперь давайте представим себе отношение к старению общества, удивившегося в реальности СМО. Вероятно, вы без труда заметите аналогии. Все стареют. Предлагаемая нами противозрастная терапия, очевидно, является поддерживающей, т.е. применяемой пожизненно (хотя прибегать к услугам специалистов придется гораздо реже, чем принимать подавляющие ВИЧ лекарства). Однако она будет эффективной: люди перестанут стареть. Правда, это потребует огромных расходов. (Сначала, главным образом, на проведение исследований, подготовку большого числа специалистов, постройку новых фармацевтических предприятий и т.п. Вероятно, упоминавшаяся выше сумма в 1 млрд. долларов ежедневно – вполне реальное допущение.)

Теперь поставим вопрос иначе. В чем принципиальные различия между ситуациями после СМО и при поголовном заражении ВИЧ? На мой взгляд, их только две.

- к моменту достижения СМО терапии от старения еще не будет;
- уверенность в близкой победе над давно привычным старением потребует, возможно, нелегкой ломки сложившихся стереотипов, тогда как ситуация с ВИЧ прямо противоположная.

Готов спорить: ни одно из этих различий не заставит человечество действовать иначе, чем в случае поголовной ВИЧ-инфекции. Отсутствие противозрастной терапии вполне сопоставимо с недостатком антиретровирусных медикаментов, который, наверняка, ощущался бы на первом этапе рассмотренного ВИЧ-сценария. В обоих случаях мы постараемся в кратчайшие сроки покончить с жизнеугрожающим дефицитом. Аргумент о том, что повсеместному внедрению спасительной терапии помешают политические события, тоже выглядит неубедительным. Если все в мире страдают смертельным заболеванием, а у нас есть способ сделать его безопасным, мы, безусловно, обеспечим общедоступность этого лечения.

☞ Почему “Война” против старения?

Наверное, вы уже догадываетесь о причинах такой агрессивной формулировки. В начале 1970-х существовала инициатива, известная как “Война против рака”. Она подразумевала широкомасштабную кампанию за финансирование онкологических исследований, подогреваемую всеобщей на-

деждой на то, что уже в ближайшие пять лет болезнь станет излечимой⁶. Проигрыш той войны, вопреки мнению некоторых, вовсе не означал ее бесполезности. Если бы не она, мы не достигли бы таких внушительных успехов в понимании рака, а значит, вряд ли стоит сомневаться, что она существенно приблизила победу над этой болезнью. Только слово “война” в данном случае выглядит совершенно неуместным – по одной простой причине: собранные на нее средства были ничтожными – практически незаметными для американских налогоплательщиков. А, как говорилось выше, война против старения потребует колоссальных расходов, бремя которых почувствует каждый. Однако очевидно также, что общество согласится на необходимое повышение налогов: победа над возрастом невозможна без готовности подавляющего большинства людей бороться с врагом, используя все доступные ресурсы. Такая ситуация, судя по историческим прецедентам, складывается только в военное время.

☞ Гиппократ и Гелсингер

Завершая эту главу, я хотел бы коснуться еще одного аспекта войны против старения – последнего этапа этой кампании, которая, скорее всего, займет не больше полутора-двух десятилетий.

В 1999 подросток Джесс Гелсингер скончался от анафилактического шока при испытании одного из методов генной терапии в филаделфийской клинике⁷. Это был первый подобный случай, оказавшийся тоже своего рода анафилактическим шоком для всей генотерапевтической области. Почти на год повсеместно приостановились связанные с нею испытания. Неизвестно, насколько конкретно это отсрочило разработку эффективной и безопасной генной терапии, но несколько недель было, безусловно, потеряно, а, учитывая широкую применимость ее методов, можно говорить о тысячах погубленных жизней. Аналогичное пробуксовывание в противозрастной области обойдется человечеству раз в сто дороже. Учитывая это, будет ли приостановка соответствующих испытаний адекватной реакцией на случайную гибель их участников?

Агентство по контролю качества пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств (FDA) в США и аналогичные структуры по всему миру ответят на этот вопрос утвердительно. Правила испытания новых лекарств и медицинских методик – в отношении как способов проведения, так и получаемых результатов – повсюду основаны на одном главном принципе: минимальный риск ухудшения состояния пациента. Причем это требование намного перевешивает максимальную пользу для здоровья (выживших). В своей политике FDA следует правилу, сформулированному ты-

сячелетия назад еще “отцом медицины” Гиппократом: “*primum non nocere*” - “во-первых, не навреди”. (Кстати, в нынешний текст “клятвы Гиппократа”, которую дают врачи перед началом практической деятельности, эта фраза не входит.)

На мой взгляд, этот принцип в наши дни неактуален. Боязнь навредить больному была вполне оправданной на заре медицины, когда люди сравнительно часто без посторонней помощи выздоравливали от болезней, казавшихся врачам смертельными просто из-за отсутствия надежных диагностических методов. В такой ситуации сама возможность вредного вмешательства оказывала сильное психологическое влияние как на докторов, так и на родственников пациента. В результате при самом объективном сопоставлении пользы и риска конкретного лечения возникал неизбежный перекос в сторону бездействия. Однако в наше время неожиданные для специалиста выздоровления – большая редкость. А значит, нынешнее минимальное соотношение 10:1 для числа жертв, соответственно, проволочек с одобрением безопасных лекарств и спешки, допускающей на рынок сомнительные препараты⁸ уже не выдерживает критики.

Надеюсь, неприемлемость такой пропорции будет признана в ходе Войны со старением практически всеми. А это за считанные месяцы после достижения СМО приведет к коренному пересмотру официальных норм, связанных с клиническими испытаниями и утверждением новых лекарств и медицинских методов. Вполне возможно, препараты будут допускаться к повсеместному использованию (по рецепту) после тестирования, примерно соответствующего нынешней 2-й стадии их проверки. Смертей из-за сомнительных лекарств станет больше. Современное соотношение 10:1, вероятно, снизится до 2:1. Но люди будут приветствовать такие изменения, сознавая, что идет война и их главная задача, несмотря на значительные потери, особенно в первых боях – покончить с врагом в кратчайшие сроки, безусловно, стараясь действовать наиболее гуманными методами. И я первым готов признать: без такой смены приоритетов мои прогнозы относительно завершения войны лет за 15-20 совершенно абсурдны. Зато когда человечество всерьез настроится на победу, ее сроки будут зависеть только от темпов наших исследований.

ВПЕРЕД К БЕЗВОЗРАСТНОМУ БУДУЩЕМУ



✎ Я ДОЛЖЕН ВАМ ПРИЗНАТЬСЯ. В главах 5-12, разясняя детали SENS, я обошел молчанием один довольно важный факт – упущение, которое читающие эту книгу биологи, вероятно, заметили. Ему посвящена данная глава. В ней я подробно остановлюсь на проблеме, уже упоминавшейся в конце главы 9, правда, применительно к одному конкретному противозрастному подходу.

Дело вот в чем. Методы, которые мы разработаем примерно в ближайшее десятилетие на мышах и адаптируем в следующие 10-20 лет к человеку, будут несовершенно совершенны. Если ничего больше не изменится, то, как бы часто и интенсивно ни применяли мы свои омолаживающие процедуры, в нашем организме продолжится накопление возрастных дефектов. Люди будут по-прежнему дряхлеть и умирать, только попозже, чем сейчас. Продолжительность жизни особо не увеличится – вероятно, от силы лет на 30-50.

Однако кое-что изменится. И в этой главе я объясню, почему так случится, и откуда взялась моя надежда на то, что уже многие наши современники смогут дожить до тысячи лет, не страдая от нынешних возрастных проблем даже в такие почтенные годы.

Для начала остановимся на причинах неизбежного несовершенства первых противозрастных методик.

Эволюция не оставила чертежей

В главе 3 я подчеркивал: наш организм – это машина, поэтому, во-первых, со временем он портится, а во-вторых, его работу в принципе можно поддерживать неограниченно долго. Я привлек для сравнения ретро-автомобили, которые нормально катаются и через сотню лет после своей сборки, даже если использовать для их техобслуживания те же самые методы, что и полвека назад, когда они уже намного превысили срок службы, заложенный в них изготовителем. Более сложные механизмы можно тоже использовать веками, однако необходимые для этого средства и опыт заставляют нас обращаться к более рентабельной альтернативе – замене старых систем новыми. Из всего сказанного, как будто, напрашивается вывод: методов, способных отсрочить старение на несколько десятилетий, достаточно и для бесконечного продления нашей жизни.

Однако, на самом деле, этот взгляд слишком оптимистичен. Сравнение человека с рукотворной машиной ограничивается следующим: пусть не в обозримом будущем, но в принципе можно разработать терапевтические методы, способные эффективно исправлять любые возрастные неисправности. Однако, вспоминая все конкретные подходы, описанные в этой книге, нетрудно заметить их серьезное отличие от текущего ремонта обычных механизмов. Наша противозрастная терапия старается не затрагивать исходные метаболические процессы, нацеливаясь только на их инертные побочные продукты, тогда как долгий уход за рукотворной машиной обычно включает некоторые технические усовершенствования (хотя бы улучшение топлива или смазочного масла). Это вполне возможно, поскольку люди (некоторые из них) точно, до мельчайших деталей знают, как устроены и действуют созданные ими вещи, а в результате могут с уверенностью говорить, что вносимые ими поправки в исходный проект не дадут непредсказуемых побочных эффектов. Однако в случае организма – даже мышиноного – мы еще слишком далеки от знания всех деталей и вынуждены компенсировать свое невежество минимальным по интенсивности вмешательством в происходящие процессы.

С точки зрения эффективности терапии это означает, что по мере устранения известных возрастных дефектов наверняка будут обнаруживаться все новые. К “семи смертельным вещам”, описанным в этой книге, прибавятся восьмая, девятая и т.д. Они практически не сказываются на нашем здоровье в рамках нынешней продолжительности жизни – иначе бы мы о них знали. Однако рано или поздно они станут смертельно опасными, если мы вовремя не придумаем, как с ними бороться.

Однако тревогу вызывают не только эти “новые вещи”. Внутри каждой из семи известных проблем существуют разные субкатегории – с одними из

них справиться труднее, с другими легче. Например, атеросклероз вызывается множеством различных по химической структуре шивок. Одни из них расщепляются алагебриумом и близкими к нему агентами, другие наверняка потребуют более хитроумных, еще не придуманных “расщепителей”. Другой пример: избавление от опасности, связанной с митохондриальной ДНК, путем введения в ядерные хромосомы ее модифицированных копий требует генной терапии, а у нас пока нет систем доставки (“векторов”) генов, которые можно безопасно внедрять во все клетки. Значит, в обозримом будущем мы сможем защищать от мутаций мтДНК только ограниченный их набор. Для распространения этой методики на весь организм потребуются гораздо более совершенные векторы.

Таким образом, методики, позволяющие омолаживать на 20 лет 60-летних, уже при повторном применении окажутся менее эффективными. В первый раз они будут применяться к людям, в организме которых накоплено на 60 лет “легких” (устраямемых терапией) и на такой же срок “трудных” (недоступных для нее) дефектов. Когда же пациенты снова станут биологически 60-летними (допустим, хронологически им к тому времени будет 80), у них будет всего на 20 лет “легких” дефектов, но уже на 80 лет “трудных”. Логично предположить, что теперь прежняя терапия подействует слабее, обеспечив, скажем, всего лишь десятилетнее омоложение. Значит, в третий раз придется проходить те же процедуры раньше, а пользы от них будет меньше. Довольно быстро эта ситуация, напоминающая гонку Ахилла за черепахой в известном парадоксе Зенона, сведется практически к базальному старению (см. **Рисунок 1**).

Однако в главах 3 и 4 объяснял, что, вопреки интуитивным ожиданиям, омолаживать организмы бывает легче, чем задерживать их старение. Теперь пора сообщить вам еще более парадоксальный факт: хотя удлинить вдвое остаток жизни у человека среднего возраста гораздо труднее, чем у молодой мыши, увеличить число наших будущих лет, скажем, в 10-30 раз будет намного проще, чем у этого животного.

☞ Две скорости технологического прогресса

Теперь я намерен ненадолго отвлечься от собственно науки и сделать краткий экскурс в ее историю или, точнее говоря, в историю технологии.

Еще в доисторические времена люди начали интересоваться возможностями собственного полета. Возможно, наше желание подняться в небо родилось почти сразу же после мечты о вечной жизни. Однако если не считать широко известного, но, к сожалению, никем не воспроизведенного опыта

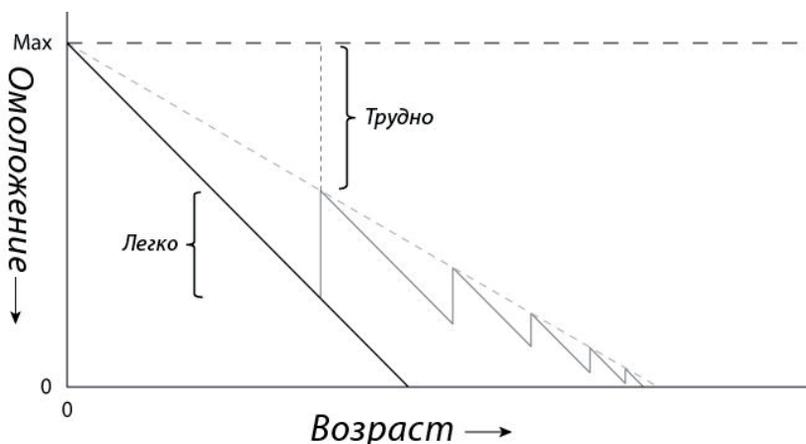


Рисунок 1. Постепенное ухудшение результатов омоложения при неоднократном применении противозрастной терапии одинаковой эффективности.

Дедала и Икара, первые успехи в области воздухоплавания появились лишь в начале 1900-х. Правда, полеты на шарах начались в конце 18 века, но в данном случае я говорю лишь об управляемых летательных аппаратах, а дирижабли появились примерно в одно время с аэропланами. До этого инженеры, начиная с Леонардо, веками ломали голову над проектами аналогичных машин и, скорее всего, верили, что до их практического внедрения остается от силы несколько десятилетий. Но они ошибались.

Однако с момента первого полета братьев Райт на мысе Китти-Хок все странном образом изменилось. Овладев основами, авиаинженеры стали покорять все новые высоты (в прямом и переносном смысле), почти не сталкиваясь с трудностями. Вспомним хотя бы самые громкие события: всего через 24 года после произведенной братьями Райт сенсации Линдберг пересек на самолете Атлантику; еще через 22 года в небо поднялся первый реактивный авиалайнер «Комета», а через 20 лет после него - сверхзвуковые пассажирские модели «Ту-144» и «Конкорд».

Такой разительный контраст между поиском фундаментальных решений и их дальнейшим развитием, на мой взгляд, типичен для любой отрасли технологии. Ниже я докажу, что это вполне объяснимо: и с научной, и с психологической точки зрения чем оригинальнее задача, тем сложнее не только ее решить, но и оценить трудности на пути к правильному решению.

Естественно, я рассуждаю о воздухоплавании с одной единственной целью: его пример позволяет прогнозировать наиболее вероятный ход про-

гресса противовозрастных технологий. Люди веками не понимали, что требуется для полета, но, решив эту задачу, двинулись вперед семимильными шагами. Аналогичным образом, мы с незапамятных времен считали старость непобедимой, однако уже в ближайшем будущем наверняка с нею справимся. После этого все станет намного проще, как и с усовершенствованием первых поднявшихся в воздух самолетов: быстро появятся методы все более масштабного и глубокого омоложения.

Естественно, на нашем пути будут трудности. Прогресс потребует времени, возможно, не меньше, чем путь от “Флайера-1” братьев Райт до “Конкорда”. И именно поэтому, если вы хотите дожить до 1000 лет, вам очень повезло, что вы человек, а не мышь. Давайте шаг за шагом проанализируем вполне вероятный сценарий.

Допустим, добившись к 2016 “Стойкого мышинового омоложения”, мы возьмем несколько десятков двухлетних мышей и соответствующими методами втрое удлиним оставшуюся им часть жизни. Это значит, что они умрут не в 2017, как их сородичи, а в 2019. А может быть, и нет, если к 2018 мы разработаем новые терапевтические методы, которые позволят снова втрое увеличить оставшийся год жизни. Напомню: второе омоложение сложнее первого. Общий уровень деградации может быть одинаковым, но чем дальше, тем выше доля дефектов, не устраненных предыдущим нашим вмешательством. Значит, для достижения прежнего результата методы, появившиеся к 2018, должны быть намного эффективнее использованных в 2016. Честно говоря, шансы на такой быстрый прогресс прикладной биogerонтологии ничтожны – практически они нулевые. Значит, как бы мы ни старались, наши мыши героически падут в 2019 (от силы в 2020).

А теперь предположим, что, добившись к 2031 “Стойкого человеческого омоложения”, мы приглашаем несколько десятков 60-летних людей и удваиваем нашими методами оставшиеся им 30 лет жизни. Когда они приходят к нам во второй раз, скажем в 2051, биологически снова 60-летними (но хронологически 80-летними), им для такого же, как и прежде, результата потребуются уже более мощная терапия (как мышам в 2018). К счастью для них, между сеансами омоложения прошло не два года, а два десятилетия. А 20 лет – очень серьезный срок для развития науки и технологии. За это время с высокой вероятностью произойдет усовершенствование применявшихся в 2031 методов, достаточное для повторного снижения биологического возраста наших 80-летних (хронологически) пациентов с 60 до 40 лет (если не больше), несмотря на повышение в их организмах (по сравнению с 2031) доли трудных для устранения дефектов. Следовательно, в отличие от мышей, люди снова – как и в первый раз – смогут полноценно прожить как минимум 20 лет, прежде чем им потребуется очередной сеанс омоложения.

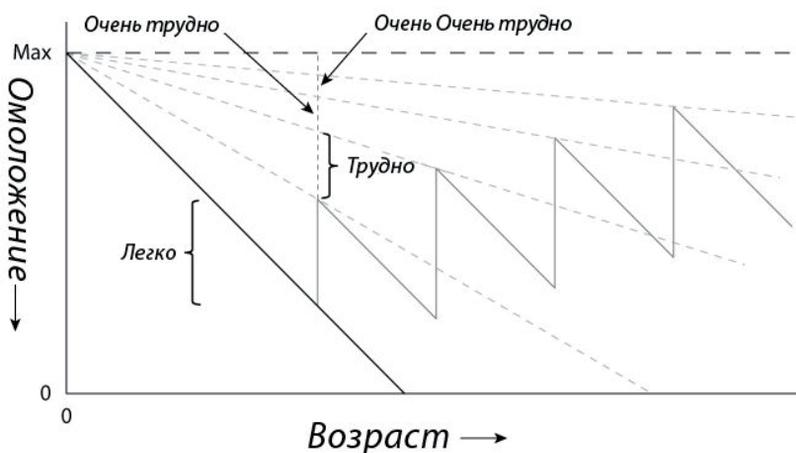


Рисунок 2. Возможность избежать ухудшения результатов омоложения (проиллюстрированного рис.1) в результате применения каждый раз все более эффективных противозрастных методов.

☞ Скорость убегания от старости (СУС)

Основной вывод, вытекающий из предыдущего раздела, таков: при определенной пороговой скорости биомедицинского прогресса мы сможем бесконечно оттягивать старение, причем эти темпы научно-технического развития нереальны применительно к мышам, но вполне вероятны в случае человека. Если наша противозрастная терапия будет настолько эффективна, что каждое ее применение обеспечит нам достаточно времени для существенного усовершенствования омолаживающих методов, что в свою очередь даст нам достаточно времени для следующего существенного усовершенствования... в общем, вы поняли. Короче говоря, такая ситуация позволит нам бесконечно сохранять биологическую молодость и здоровье вне зависимости от чисто хронологического возраста. По-моему, в данном случае вполне оправдан термин “скорость убегания от старости” (СУС)¹.

Стоит отметить одну из особенностей СУС: возможность накапливать “фору”. Если в один из периодов наша терапия будет развиваться быстрее, чем требуется, значит, в следующий мы можем позволить себе некоторое снижение темпов прогресса. Чтобы бесконечно ускользать от возрастной деградации, необходимо, начиная с первого сеанса омоложения (прибавляющего нам всего 20-30 лет жизни), поддерживать выше порогового уровня СУС лишь среднюю скорость совершенствования противозрастных методов.

Давайте для наглядности рассмотрим то же самое с точки зрения физического состояния организма. В этой книге я постоянно говорю о старении как о накоплении разнообразных молекулярных и клеточных “дефектов”. Я подчеркивал, что небольшое их количество не проблема – на метаболизме особо не сказывается, как не мешает, скажем, немного мусора на полу нормальному ведению домашнего хозяйства: достаточно подметать не каждый час, а раз в неделю. Следовательно, достижение и поддержание СИС означает всего лишь усовершенствование противозрастной терапии темпами, которые опережают изменение качественного состава возрастных дефектов в сторону их стойких к устранению форм (по мере постепенного снижения доли тех, которые ликвидировались и прежними методами). Если удастся этого добиться, суммарный уровень дефектов всех типов будет постоянно оставаться ниже порога, соответствующего функциональной деградации (снижению “запаса прочности”) организма.

Вероятно, еще проще проиллюстрировать все вышесказанное аналогией с буквальной “скоростью убегания”, необходимой для преодоления земного притяжения. Предположим, мы спрыгиваем с обрыва. Жить остается совсем немного, и по мере нашего падения ее предстоящая продолжительность быстро сокращается. То же самое происходит при старении: чем мы старше, тем меньше впереди лет. Периодические сеансы омолаживающей терапии аналогичны прыжку с обрыва с реактивным ранцем на спине. Сначала его двигатели выключены, но, пролетев вниз некоторое расстояние, мы их включаем и замедляем падение. А потом постепенно прибавляем мощности, пока оно полностью не прекращается, постепенно превращаясь в подъем. И чем выше мы поднимаемся, тем легче продолжать это движение.

☞ Политические и общественные аспекты СУС

Мне стоило больших трудов убедить коллег-биogerонтологов в осуществимости различных компонентов SENS, но, потратив достаточно времени на обсуждение деталей, я в общем и целом добился успеха. Однако, когда речь зашла о СУС, реакцией на мои слова было полное непонимание. Это, впрочем, не удивительно: концепция СУС еще дальше от традиционных научных представлений, чем прочие мои предложения. Речь идет не просто о понятии, не используемом классической геронтологией. Строго говоря, оно относится вообще не к естественным наукам, а скорее к истории технологии. Однако это для меня не оправдание. Если я привлекаю для доказательства своих взглядов историю технологии, значит, обязан растолковать ученым ход своих рассуждений.

Еще одна важная причина неприятия моими коллегами концепции СУС в том, что, признав реальность ее достижения, они не смогут больше твердить о перспективах продления молодости всего лишь на одно-два десятилетия. Как подчеркивалось в главе 13, маститые геронтологи боятся прослыть увлекающимися прожектерами, поэтому избегают серьезного обсуждения вопросов, связанных с радикальным продлением человеческой жизни – учитывая всю неопределенность данной тематики. Они предпочитают занимать выжидательную позицию.

Возможно, вы считаете, что я должен был реагировать на это, переведя, так сказать, стрелки на ближайшие задачи – оттачивание деталей SENS первого поколения. Это обеспечило бы мне большее понимание и поддержку ученых, которых бы не шокировали разговоры о СУС и человеческом долголетии, измеряемом четырехзначными числами. Однако я не мог согласиться на такой вариант по очень простой и неоспоримой причине: я вижу свою задачу в спасении человеческих жизней. Чтобы спасти как можно большее их количество (т.е., если угодно, добавить людям как можно больше лет здоровой жизни), мне нужно решать проблему в целом. А это значит – доказывать широкой общественности, вам, дорогие читатели, важность моих конечных целей, гарантируя тем самым финансирование их достижения.

Возможно, вы сейчас думаете: не стоит спешить. Бесконечное продление жизни – такая фантастическая задача, что лучше о ней помалкивать, без особых трудов собирая средства на последовательные этапы ее достижения. Не согласен – и опять же по очень весомой причине.

Самый богатый в мире человек, Билл Гейтс, несколько лет назад основал фонд, главная цель которого – решать проблемы здравоохранения в развивающихся странах². Это очень ценная гуманитарная миссия, которую я искренне поддерживаю, хотя непосредственно с SENS она и не связана. И я не одинок в своей поддержке: в 2006 владелиц второго в мире состояния, Уоррен Баффетт, стал ежегодно жертвовать значительные суммы в Фонд Гейтса³.

Однако стремление богатейших людей планеты содействовать мировому здравоохранению, если смотреть на вопрос шире, может способствовать и реализации SENS. Прилив, как говорится, поднимает и океанские суда, и рыбацкие лодки. Если уж такие финансовые киты считают для себя достойной (и даже похвальной) роль серьезных спонсоров здравоохранения, то и мелкая рыбка “всего лишь” с одним-двумя свободными миллиардами охотнее следует этой тенденции – перестает считать ее бессмысленной тратой с трудом нажитых денег.

Однако вот в чем загвоздка. Логика предыдущего абзаца действует лишь в том случае, когда моральный статус SENS сравним в глазах толстосумов с авторитетом здравоохранения в целом. И именно СУС принадлежит здесь решающее слово.

Методы SENS требуют огромных расходов – на стадиях и разработки, и применения, по крайней мере первоначального. Каковы перспективы получения нами таких денег, если конечным результатом будет добавка всего пары десятков лет жизни людям, которые и так живут дольше большинства населения планеты, после чего начнется их ведущее к смерти угасание?

Вряд ли мировое сообщество видит в этом свою главную задачу.

Боле того, я готов признаться, что и сам, имея несколько лишних миллиардов долларов, не стал бы тратить их на такое мизерное увеличение качества и продолжительности жизни и без того неплохо себя чувствующего меньшинства человечества, когда альтернативой является не меньший, а то и больший рост качества и продолжительности жизни (в современных пределах) наших менее благополучных собратьев по разуму.

Очевидно, именно их в ближайшем будущем концепция СУС особо волновать не будет. Ее в первую очередь должны осознать те, кто умирает не от голода и болезней, а от “старости”, т.е. главным образом жители богатых стран мира. Однако среди этой части человечества широко распространено мнение, разделяемое в том числе и владельцами рекордных состояний, что долгосрочные перспективы прогресса зависят от высоты поставленной нами планки. В частности, моральный императив помощи отстающим должен уравниваться не менее императивной задачей обеспечивать максимальную скорость развития человечества в целом, а это означает, прежде всего, содействие тем, кто уже выбился в лидеры. Если SENS с высокой вероятностью ведет к СУС, т.е. в конечном итоге к бесконечному продлению жизни при одновременном повышении ее качества, речь идет о цели, рядом с которой меркнут любые другие задачи, требующие сходных капиталовложений. Естественно, важность СУС для SENS не только в возможности подарить людям гораздо больше, чем пару дополнительных десятилетий. Вероятно, самое главное – сохранение человеком в течение всех своих будущих столетий молодости и здоровья, пока его, скажем, не угораздит попасть под машину. Следовательно, среднее качество нашей жизни возрастет гораздо заметнее, чем при простом сдвиге в соотношении ее бодрого и дряхлого периодов, скажем, с 7:1 до 9:1.

☞ Количественное уточнение СУС

Надеюсь, этой главой я перекрыл все лазейки для тех, кто ищет уязвимые места в моей противозрастной стратегии. Я продемонстрировал, что SENS означает полную победу над старением, хотя, если говорить о строго терапевтическом подходе, в каждый конкретный момент времени предполагается сравнительно небольшое омоложение организма. Надеюсь, ни у

кого не осталось сомнений: именно это уникальное свойство SENS делает ее в глазах общества одной из важнейших задач современности – ничуть не уступающей по значению столь многим программам, уже привлекающим огромные средства частных благотворительных фондов.

Я далек от самообольщения. Я знаю: люди достаточно изобретательны, даже когда хотят увильнуть от борьбы со старением. Учитывая это, чтобы не прекращать хотя бы медленного наступления, я недавно привлек к сотрудничеству замечательного программиста и футуролога Криса Финикса. Вместе с ним мы стали уточнять масштабы продления здоровой жизни, ожидаемые на основе тех или иных темпов совершенствования SENS-терапии. Это привело к серии публикаций, описывающих различные сценарии, однако общий вывод таков: есть все поводы для оптимизма. Чтобы достичь поставленной цели, достаточно начать с удвоения примерно за каждые 40 лет эффективности омоложения; со временем эту скорость можно даже сбавить. Под “удвоением эффективности” я понимаю уменьшение вдвое количества не поддающихся устранению дефектов.

Вывод ясен. Степени контроля над собственным старением, сравнимого с нашим умением обновлять ретро-автомобили, практически бесконечно поддерживая их в полностью рабочем состоянии, мы почти наверняка достигнем не за одно столетие. Однако, поскольку СУС не слишком высока, мы, скорее всего, добьемся функционально близкого эффекта уже в ближайшие десятилетия, когда в нашем распоряжении окажутся методы, дающие людям среднего возраста примерно 30 дополнительных лет молодой жизни.

Можно говорить, найден источник вечной молодости, не правда ли?

ВОЕННЫЕ ЗАЙМЫ НА КАМПАНИЮ ПРОТИВ СТАРЕНИЯ



ИТАК, ИЗ ЭТОЙ КНИГИ СЛЕДУЕТ СМЕЛЫЙ, но вполне обоснованный вывод: велика вероятность, что уже вы, дорогие читатели, сможете воспользоваться процедурами, которые сделают вас на годы, а то и на десятилетия младше – биологически – вашего хронологического возраста. В перспективе же это приведет к буквально бесконечной молодости каждого человека. Однако такое развитие событий отнюдь не гарантировано. Конечно, если уж мы начали войну со старостью, то добьемся победы и отстоим светлое будущее человечества. Однако кто первым сумеет наслаждаться плодами победы, т.е. вечной молодостью – наши родители, мы сами, наши дети или только внуки – полностью зависит от того, когда на врага упадет первая наша бомба – стойкое мышинное омоложение (СМО). А отсюда ключевой вопрос к каждому из нас: “Что лично я готов ради этого сделать?”

Учитывая, что война против старения может начаться уже в ближайшее десятилетие, есть смысл позаботиться о себе и своих близких – обидно будет не дожидать всего нескольких лет до появления методов стойкого человеческого омоложения. Что конкретно делать для этого, науке прекрасно известно: надо налегать на фрукты и овощи, получать с пищей незаменимые жирные кислоты, поддерживать нормальный вес и физическую активность. Однако гораздо более эффективный способ повысить свои собствен-

ные шансы на омоложение, а заодно и помочь избежать старости всем своим близким и миллионам совершенно незнакомых вам людей – приближение всеми силами дня решительной битвы. К счастью, многое для этого можно делать уже сегодня, спасая ежедневно десятки тысяч жизней, в число которых, возможно, входит и ваша. Самая очевидная мера – лоббирование связанных с SENS исследований и в первую очередь снятия в США ограничений на федеральное финансирование работ с эмбриональными стволовыми клетками. Пишите своим политическим представителям, требуйте изменений к лучшему.

Однако еще более мощное средство – дотации в Мафусаилов фонд.

Давайте вспомним, с чего нам приходится начинать, и как, исходя из этого, лучше всего влиять на наше будущее.

Помните треугольный затор, описанный в главе 13? Причина, блокирующая приток инвестиций, необходимых для СМО, т.е. для достижения первой и критической победы в борьбе не на жизнь, а на смерть с биологическим старением – порочный круг из недальновидности политиков (не финансирующих революционных исследований), сверхосторожности ученых (в публичных выступлениях и заявках на гранты) и молчании общественности (ничего не знающей о перспективах войны со старением). Лучший способ разорвать этот круг – создание независимого источника средств, откуда необходимые миллиарды долларов польются непосредственно в работающие над СМО лаборатории. К сожалению, быстро собрать нужную сумму будет, скорее всего, затруднительно – именно из-за господствующего в обществе пессимизма, порождаемого самими учеными, которые опасаются за свою карьеру в условиях пресловутого треугольного затора.

Существуют два реалистичных способа изменить эту ситуацию, и оба из них во многом зависят от Мафусаилова фонда.

Первый из них – прямое финансирование исследований в области SENS. Можно делать это, внося деньги в Мафусаилов фонд. Он представляет собой стандартную организацию по спонсированию науки. Как и сотрудники Национального научного фонда Национальных институтов здравоохранения США, наша команда, возглавляемая мною как научным руководителем, оценивает публикации в специальной литературе и открытия ученых, выделяя по результатам своей экспертизы средства профессорам разных стран мира. Естественно, от других аналогичных агентств мы отличаемся тем, что ориентируемся на вполне определенную цель и не боимся финансировать проекты, успешное завершение которых может потребовать много времени.

Даже если такое их завершение не гарантировано. Вот почему, стараясь защитить свои инвестиции, вы используем вторую стратегию.

Я лично считаю SENS самым перспективным путем к быстрому достижению СМО, а, следовательно, и к аналогичному омоложению человека, но, как и любой ученый, я могу ошибаться. По поводу оптимальных способов решения действительно сложных технологических задач – как в медицине, так и в других областях – мнения лучших экспертов могут сильно расходиться. На одном полюсе тут ситуации, когда практически никто не сомневается в том, как именно надо действовать, и единственное, что тормозит движение к цели – недостаток ресурсов. Хороший пример тут – космическая программа “Аполлон”: когда национальная гордость высвободила необходимые для него средства, работы рванулись с места быстрее, чем рытье Бостонского туннеля. Однако на противоположном полюсе – ситуации, схожие с состоянием дел в самолетостроении до 1900 или практически во всей медицине до 1800. Альтернативных – в основном крайне спекулятивных – идей хватало, но попытки их реализации либо проваливались, либо никогда не предпринимались. Проверка множества сравнимых по осуществимости предложений – слишком дорогое удовольствие для любой организации, включая самое мотивированное правительство.

К счастью, существует проверенная временем стратегия, которая неоднократно и успешно использовалась для решения инженерных проблем такого рода, не требуя и малой доли всей суммы, необходимой для завершения проекта. Речь идет о премиях.

История их применения для достижения конкретных целей полна блестящих примеров, связанных с созданием эффективных прототипных технологий с минимальными капиталовложениями. Знаменитый трансатлантический перелет Чарльза Линдберга в 1927; изобретение в 18 веке часовщиком Джоном Харрисоном способа точного определения долготы корабля в открытом море (это необходимо для успешной навигации вдали от берега); нашумевший “фотофиниш”, завершивший в 2004 запущенную “Х-Премией” Ансари гонку к первому частному суборбитальному полету – все это примеры могучей силы такой мотивации как двигателя научно-технического прогресса.

Главная ценность премии в том, что она финансирует только успех. Ни один доллар не тратится впустую, пока не достигнута цель, поставленная ее учредителями. В результате единственная сравнительно небольшая сумма мотивирует сразу множество независимых групп ученых или инженеров. Каждая из них идет к ней своим путем, расходуя собственные деньги. В результате средства, инвестируемые по ошибке в подходы, которые в конечном итоге оказываются неудачными, не стоят заказчику работ ни копейки. Затраты успешного соискателя обычно более чем компенсируются премией, но в сумме они выкладывают в 10-20 раз больше, чем предлагается

победителю. Значит, организаторы гонки достигают своей цели с гораздо меньшими расходами, чем потребовал бы не вызывающий сомнений проект типа “Аполлона”.

Вы догадываетесь, к чему я клоню.

Премия “Мышь-Мафусаил” (или просто “М-премия”) – это проект, который независимо обдумывался на рубеже тысячелетий несколькими биогеронтологами (начиная с концепции Прометеевской премии, предложенной Грегори Стоком) и энтузиастом-гуманитарием Дейвидом Гобелом. Когда мы с ним открыли друг друга, наши взаимодополняющие таланты быстро принесли долгожданный плод. Целью нашего проекта является взрыв пресловутого треугольного загора с использованием премии, выдаваемой на тех же условиях, что и “Х-премия” Ансари. Пользуясь консультациями Питера Дайамандиса, председателя и главного распорядителя этого фонда, мы предлагаем “Премии омоложения” за максимальное продление жизни уже немолодых мышей, иными словами – за выдающийся прогресс на пути к полномасштабному СМО.

“М-премия” призвана устранить препятствия, которые все еще мешают государственным экспертам и работающим в промышленности ученым относиться к процессу старения как к излечимому заболеванию. Академических исследователей она стимулирует адекватно составлять заявки на гранты – в надежде, получив нашу премию, увеличить прямое финансирование и повысить престиж своих институтов. Последнее немаловажно, поскольку престиж обычно пропорционален количеству средств, получаемых учеными из различных источников.

И это еще не все. Победа в любом состязании придает известности. Предложенная нами премия привлекает внимание общества и дает уникальную возможность информировать СМИ и широкую публику о том, что ученые работают над продлением здоровой жизни млекопитающих. Это повышает доверие к любым подобным исследованиям, помогая признать реалистичность аналогичной задачи и применительно к человеку. Изменившееся настроение общества, в свою очередь, поможет снять политические ограничения с государственного финансирования самых смелых биogerонтологических проектов, а возможно, и потребует выделения на них значительных средств еще до достижения СМО.

Кроме того, “М-премия” изменит ориентиры промышленности. Сейчас у работающих в частных фирмах исследователей нет особой мотивации заниматься продлением мышиной жизни: в лучшем случае они смотрят на это как на этап, ведущий к долгим и дорогостоящим испытаниям на человеке. Однако когда речь идет о существенном финансовом поощрении и, скорее всего, широкой известности, возникает явная заинтересованность в

том, чтобы потратить на такую “мышиную возню” не месяцы, а годы. Если какой-нибудь компании удастся выиграть нашу премию, добившись существенного омоложения животных, я готов спорить на что угодно – Большая Фармацевтика будет ломиться в ее дверь, вымаливая права на дальнейшие разработки этого ноу-хау – применительно к человеку.

В результате “М-премия” разорвет порочный круг (или, если угодно, треугольник), который душит сейчас серьезную биомедицинскую геронтологию. Более того, она сможет изменить нынешнюю тенденцию на противоположную, создав самоподпитывающийся механизм, способствующий прогрессу науки. Получаемые исследователями результаты станут подогревать оптимизм общественности, благосклонное мнение которой приведет к сдвигам в настроениях политиков, а все это, безусловно, увеличит приток государственных и частных инвестиций. В конечном итоге (возможно, очень быстро) эти средства приведут к СМО, даже если подход, предлагаемый SENS, окажется не оптимальным. И начнется серьезная война против старения.

Итак, правильно питайтесь, занимайтесь физической активностью, поддерживайте Мафусаилов фонд, и я надеюсь, мы с вами пожмем друг другу руки в эпоху, когда победа над возрастом станет реальностью - когда мы сможем наслаждаться необыкновенно долгой жизнью, сохраняя на всем ее протяжении здоровье и силы, когда призрак неизбежной старости рассеется под солнцем вечной молодости.

