

ТЕЛОМЕРНЫЙ МЕХАНИЗМ СТАРЕНИЯ

В.М. Михельсон, И.А. Гамалей

Институт цитологии Российской Академии Наук, Санкт-Петербург

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	1
ИСТОРИЯ РАСКРЫТИЯ ТЕЛОМЕРНОГО МЕХАНИЗМА ЕСТЕСТВЕННОГО СТАРЕНИЯ	7
ТЕЛОМЕРНАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ	15
ОБЪЯСНЕНИЕ КАЖУЩИХСЯ ПРОТИВОРЕЧИЙ ТЕЛОМЕРНОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ	21
НЕСПОСОБНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ ОБЪЯСНИТЬ ИМЕЮЩИЕСЯ ФАКТЫ	27
УСКОРЕНИЕ СТАРЕНИЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АФК ТАКЖЕ ЯВЛЯЕТСЯ РЕЗУЛЬТАТОМ УКРОЧЕНИЯ ТЕЛОМЕР	35
СПЕЦИФИКА ЛУЧЕВОГО СТАРЕНИЯ	37
О НЕСТАРЕЮЩИХ ВИДАХ ЖИВОТНЫХ	39
НЕКОТОРЫЕ ГИПОТЕЗЫ И ТЕОРИИ О МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ, КОНКУРИРУЮЩИЕ С ТЕЛОМЕРНОЙ	41
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	45
ПРИЛОЖЕНИЕ: БОЛЕЗНИ НАСЛЕДСТВЕННОГО ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ (ПРОГЕРИИ) КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ПОНИМАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ЕСТЕСТВЕННОГО СТАРЕНИЯ	47
ВЫВОДЫ	65
ЛИТЕРАТУРА	67

*От бездны мрачного Надира
 До кульминации Кейвана
 Я разрешил загадки мира,
 Трудясь над ними неустанно.
 Сложнейшие узлы Вселенной
 Распутал я проникновенно,
 Но лишь узла простого – смерти
 Не развязал я, вот что странно.
 Авиценна*

ВВЕДЕНИЕ

Как видно из приведенной цитаты, великому средневековому ученому Авиценне (Абу Али ибн Сина, 980-1037) казалось странным, что он не смог разобраться в такой представлявшейся ему простой вещи, как причины старения и смерти. Надо признать, что не только в XI веке, но и вплоть до конца XX века механизмы старения оставались совершенно непонятными. Существовало несколько десятков теорий о механизмах старения. Все – неверные. Несмотря на это, однако, само старение идет безотказно. Для человека, в частности, максимальная продолжительность жизни составляет порядка ста лет, очень редко – лишь немногим больше. Длительность жизни других млекопитающих тоже жестко ограничена. Казалось логичным думать, что такая всеохватывающая закономерность должна иметь четкую материальную причину, однако выявить эту причину долго не удавалось.

Если говорить о человеке, то за последние полтора столетия **средняя** продолжительность жизни резко выросла. Еще в середине XIX века она составляла в большинстве европейских стран, в т.ч. в России, порядка 35-40 лет. Причинами низкой средней продолжительности жизни было недостаточное развитие медицины и низкий уровень гигиены, приводившие, в частности, к высокой смертности младенцев от инфекционных заболеваний, а также частые эпидемии и даже пандемии таких болезней, как чума, оспа, холера, которые выкашивали иногда бóльшую часть населения на значительных территориях. В наши дни успехи медицины привели к тому, что те болезни, в первую очередь – инфекционные, которые были главными причинами высокой смертности вплоть до середины XIX века, в большинстве своем перестали быть

смертельными, эпидемические заболевания почти исчезли, и в результате средняя продолжительность жизни в наиболее благополучных странах выросла очень резко – до 80 и более лет в Швеции, Норвегии, Японии и еще некоторых развитых государствах (это при том, что какие-то младенцы, разумеется, умирают и в Швеции, и кто-то попадает под трамвай, но в среднем продолжительность

жизни существенно возросла). По-видимому, средняя продолжительность жизни в этих странах приблизилась к своему пределу.

Что же касается этого предела – **максимальной** (видовой для человека) продолжительности жизни, то за известную нам историю человечества она не изменилась и осталась такой же, какой была 5 тысяч лет назад в древнем Египте – порядка 100 лет. Более ранних данных о продолжительности жизни человека у нас нет, т.к. люди, жившие ранее древних египтян, не владели письменностью и не оставили нужных свидетельств. Относительно же Египта известно, что согласно «Египтике» Манефона, один из фараонов VI династии (это III тысячелетие до нашей эры) – Пепи II Неферкара – прожил как раз 100 лет (около 2260-2160 до н.э.), что и тогда, если верить Манефону, было рекордом.

Правда, в Ветхом Завете сказано, что первые патриархи (вплоть до Авраама, которого уже можно считать исторической личностью) жили очень подолгу, в частности, Мафусаил прожил 969 лет. Авраам же, по Библии, жил всего 200 лет, Впрочем, лишь потому, что был за что-то наказан Богом, и после него люди живут не более 100 лет. Надо признать, что эти библейские сведения о долгожительстве патриархов представляются неубедительными. Дело в том, что Авраам проживал в Ханаане (ныне – Израиль, Палестина), т.е. неподалеку от древнего Египта, куда даже имел обыкновение ходить пешком. При этом Авраам жил, по подсчетам специалистов, где-то в начале II тысячелетия – около 2000-1800 до н.э., т.е. существенно позже, чем Пепи II Неферкара. Т.о., к библейским датировкам этой эпохи нельзя относиться серьезно, тем более что даже по этим датировкам Библия написана значительно позже времени жизни

патриархов. Были, разумеется, предложены наукообразные объяснения того, почему первые упомянутые в Библии патриархи жили так долго – например, что Земля в ту пору вращалась быстрее, чем в наши дни, однако астрономы доказали, что изменений скорости вращения Земли за последние миллионы лет не было.

Так или иначе, продолжительность жизни современных людей чрезвычайно редко существенно превышает 100 лет. Согласно Книге рекордов Гиннеса (Guinness World Records, 2012), в мире до сих пор зарегистрированы лишь 29 человек, чей возраст превысил 100-летний рубеж более, чем на 10 лет (абсолютный рекорд – 122 года), из которых лишь трое были еще живы в 2012 г. Любопытно, что все эти долгожители, почти исключительно женщины, жили и живут в экономически развитых странах Европы и Америки, а также в Японии. Следует, впрочем, отметить, что четкая верификация долгожителей началась лишь во второй половине XX века.

Представляется существенным, что наряду с упомянутым выше резким снижением в последние десятилетия смертности от инфекционных болезней, соответственно выросла смертность от таких заболеваний, как рак, сердечная недостаточность, инфаркт, инсульт, лечение которых пока недостаточно эффективно. Иными словами, если даже удастся вылечить человека от излечимых болезней, он все равно неизбежно скончается от рака или инфаркта, не превысив сколько-нибудь существенно максимальную продолжительность человеческой жизни. Вновь возникает необходимость объяснить, что же не позволяет большинству людей достигнуть 100-летнего рубежа, тем более серьезно превысить его.

В настоящее время конкурируют между собой две основные теории о механизмах старения: теломерная и окислительная (она же свободнорадикальная, она же митохондриальная). Сторонники последней, существующей уже более 70 лет (Harman, 1956), пожалуй, даже преобладают. Впрочем, подобные вопросы не решаются, к счастью, большинством голосов.

ИСТОРИЯ РАСКРЫТИЯ ТЕЛОМЕРНОГО МЕХАНИЗМА ЕСТЕСТВЕННОГО СТАРЕНИЯ

В 1961 г. американский врач Леонард Хейфлик (**Рис.1**) обнаружил, что клетки человека не могут делиться бесконечно: *in vitro* они проходят примерно 50 удвоений и прекращают пролиферацию (Hayflick, Moorhead, 1961).

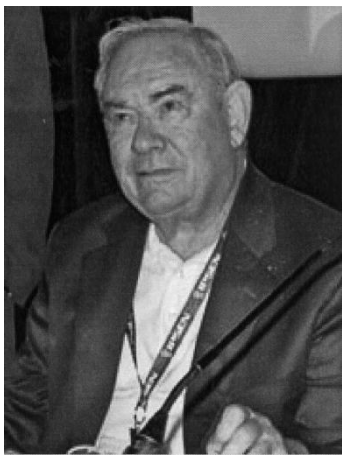


Рис 1. Леонард Хейфлик

Эта цифра в 50 удвоений, получившая название «лимита Хейфлика», достаточно условна, поскольку точно проследить, сколько раз может поделиться отдельная клетка человека, не удастся. Т.о., результаты опытов Хейфлика не означают, что человеческая клетка способна поделиться именно 50 раз (скорее всего – больше), а означают лишь, что при том способе подсчета, который применял Хейфлик и который применяется сейчас повсюду как наиболее простой и удобный, популяция человеческих фибробластов в культуре удваивается обычно $\sim 50 \pm 10$ раз.

Хейфлик культивировал фибробласты легкого человеческого эмбриона. Подсчет количества удвоений клеточной популяции производился следующим образом: когда дно культурального флакона заполнялось клетками, их деления останавливались по причине «контактного торможения», ибо нормальные диплоидные клетки делятся лишь при наличии свободного места (в отличие от трансформированных, раковых клеток, которые лезут друг на друга). Хейфлик рассеивал заполненный флакон на два – при появлении свободного места клетки возобновляли пролиферацию вплоть до заполнения новых флаконов; заросший флакон снова рассеивали на два для дальнейшей пролиферации, и т.д. Таких пересевов с разделением клеток на два флакона удавалось провести обычно не более 50, после чего пролиферация замедлялась настолько, что клетки оказывались неспособны заполнить следующий флакон: хотя отдельные клетки продолжали делиться, другие – гибли, и флакон не заполнялся.

При заполнении флакона после каждого пересева количество клеток удваивается. Разумеется, при каждом пересеве культуры какая-то часть клеток гибнет, часть может поделиться более, чем один раз, но условно можно считать, что при каждом таком пересеве каждая клетка делится в среднем один раз. Таких удвоений популяции диплоидные клетки человека могут пройти ~ 50.

Для того, чтобы доказать, что причина ограниченности числа удвоений популяции – не в условиях культивирования, а в самих клетках, Хейфлик смешивал в одном флаконе клетки, ранее прошедшие разное количество удвоений, например, 5 и 40 (разумеется, клетки этих двух групп должны были быть различимы, скажем, быть разного пола), и уже через несколько пересевов во флаконе оставались только клетки, исходно прошедшие меньшее число делений. Поскольку условия культивирования клеток, находящихся в одном флаконе, были одинаковыми, очевидно, что причина «лимита Хейфлика» – в свойствах самих клеток. Мало того, Хейфлик показал, что если заморозить культуру клеток, прошедшую определенное количество удвоений (например, 20), то после размораживания клетки этой культуры окажутся в состоянии поделиться лишь оставшееся число раз до лимита (в данном примере еще порядка 30 раз). В первой же работе Хейфлик предположил, что неспособность нормальных диплоидных клеток делиться бесконечно (исчерпание лимита делений) и служит причиной естественного старения организмов (Hayflick, Moorhead, 1961).

Позже было установлено, что лимит Хейфлика для клеток пролиферирующих тканей других видов животных, по крайней мере – млекопитающих, также довольно хорошо коррелирует с их видовой продолжительностью жизни (**Табл.1**).

Открытие Хейfliка было встречено большинством специалистов по клеточной биологии с большим недоверием (см. Гаврилов, Гаврилова, 1982; Cristofalo et al., 1998; 2004), поскольку на протяжении всего XX века было широко распространено убеждение в том, что при создании для клеток

Табл.1

КОРРЕЛЯЦИЯ ВИДОВОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ С ЛИМИТОМ ХЕЙФЛИКА		
Вид	Максимальная продолжительность жизни (лет)	Максимальное число удвоений клеточной популяции в культуре
Galapagos tortoise (Галапагосская черепаха)	200	90-125
Homo sapiens (Человек)	100	40-60
Horse (Лошадь)	50	30
Buffalo (Бизон)	40	25-30
Rhesus macaque (Макака резус)	30	30-40
Green monkey (Зеленая обезьяна)	25	27-27
Cat (Кошка)	20	15-25
Hen (Курица)	20	15-20
Sheep (Овца)	15	20
Peking duck (Пекинская утка)	11	14-20
White mouse (Белая мышь)	4	14-28

комфортных условий они могут делиться бесконечно, а если культура гибнет, то причина этого – неумение экспериментатора такие условия создать (в значительной части случаев так оно, скорее всего, и было). Подобная точка зрения была основана на том, что существуют клеточные культуры, которые могут поддерживаться и пролиферировать практически бесконечно – по крайней мере, в течение десятков лет: пример – клетки HeLa, полученные в 1951 г. из раковой опухоли шейки

матки женщины и широко используемые в мировой науке до сих пор. Большинство исследователей не фиксировали внимания на том факте, что неограниченно пролиферируют только трансформированные (раковые) клетки.

Другой причиной неприятия выводов Хейfliка большинством специалистов по культивированию клеток была ошибка французского хирурга Алексиса Карреля (**Рис.2**), впервые получившего культуру клеток *in vitro*. В 1912 г. Каррель получил Нобелевскую премию за предложенный им способ сшивания кровеносных сосудов, который применяется до сих пор. Неумение сшивать кровеносные сосуды было, как он считал, основным препятствием при трансплантации органов. Вооруженный своим методом, Каррель попытался

пересаживать органы в экспериментах на животных, и столкнулся с тем, что трансплантациям органов от другого организма препятствует не только неумение сшивать сосуды, но и иммунитет. Предполагая обойти эту трудность, Каррель решил, что если чужеродные органы отторгаются иммунитетом, можно вырастить нужный орган из здоровых тканей собственного организма больного, и ему же трансплантировать. Выращивать органы *in vitro* не удастся и в наши дни, лишь в самое последнее время удалось вырастить *in vitro* мочевого пузыря человека (Atala, 2012). Но Каррель попытался это сделать, и впервые получил *in vitro* культуру клеток соединительной ткани сердца цыпленка (Carrel, 1912; 1913; 1914). Сама возможность поддержания жизни

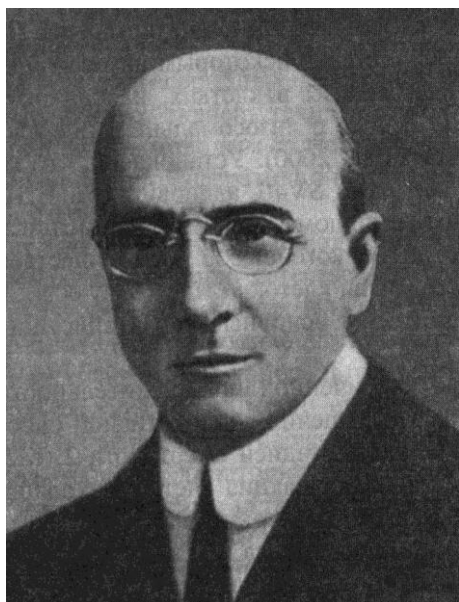


Рис.2. Алексис Каррель (1873-1944)

клеток вне организма вызвала большой общественный интерес, и поскольку культуры клеток, полученные Каррелем, поддерживались в течение многих десятилетий и даже пережили автора (Каррель скончался в 1944 г.), не только у широкой публики, но и среди специалистов, сложилось представление о том, что клетки сами по себе способны жить и делиться неограниченно долго.

После открытия Хейфлика были проведены

многочисленные попытки повторить результаты Карреля (Beug, Graf, 1977, и др.), но ни в одном случае не удалось подтвердить способность клеток кур пролиферировать в течение нескольких лет: они проходят *in vitro* не более 15-20 удвоений популяции (см. таблицу 1).

Истинные причины того, почему в многочисленных опытах Карреля и в дальнейшем его сотрудника Эбелинга в США куриные клетки пролиферировали неограниченно долго, до сих пор непонятны. Трудно предположить, что клетки в культуре трансформировались спонтанно: клетки

птиц, в отличие от клеток, например, мышей, практически никогда спонтанно не трансформируются. Трудно также предположить, что при приготовлении ростовой среды для клеток Каррель и Эбелинг вносили в культуру новые живые клетки: оба они были очень квалифицированными экспериментаторами, и крайне маловероятно, что они могли систематически совершать одну и ту же ошибку. Скорее всего, данные о неограниченной пролиферации клеток кур *in vitro* являются результатом простого жульничества, но не со стороны Карреля или Эбелинга, а со стороны их лаборанток, которых ругали, если культуры гибли, и они время от времени вносили свежие клетки. Впрочем, это – лишь предположение (Khalyavkin, 2010).

Свидетельством того, что способность диплоидных клеток к пролиферации ограничена не только *in vitro*, но и *in vivo*, служат опыты по серийным трансплантациям клеток костного мозга смертельно облученным мышам (Vos, Dolmans, 1972). Доза ионизирующей радиации порядка 10 Gy убивает в кроветворных органах мышей большую часть клеток, что обрекает животное на гибель от лучевой болезни в течение ближайших нескольких дней. Если, однако, трансплантировать таким смертельно облученным, но еще живым мышам клетки костного мозга необлученных сингенных¹ животных, эти клетки, быстро размножаясь, заполняют кроветворные органы облученной мыши и предотвратят (во всяком случае, существенно отсрочат) ее гибель. Клетками костного мозга, полученными от такой облученной и излеченной мыши, можно вылечить другую смертельно облученную мышь, клетками этой излеченной – вылечить третью облученную, однако после 3-4 таких последовательных трансплантаций клетки последнего излеченного животного теряют способность заполнять кроветворные органы очередного облученного реципиента и не предотвращают его гибели. Учитывая, что при подобных серийных экспериментах последовательно трансплантируются необлученные клетки

¹ Сингенными называются линии мышей, специально выведенные таким образом, что все мыши данной линии имеют практически идентичные гены (как однояйцевые близнецы) и трансплантация тканей между ними возможна.

первой, здоровой мыши, единственное разумное объяснение этих результатов состоит в том, что клетки костного мозга исчерпывают *in vivo* свой потенциал делений (Рис.3).

**СЕРИЙНЫЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА
СМЕРТЕЛЬНО ОБЛУЧЕННЫМ МЫШАМ**

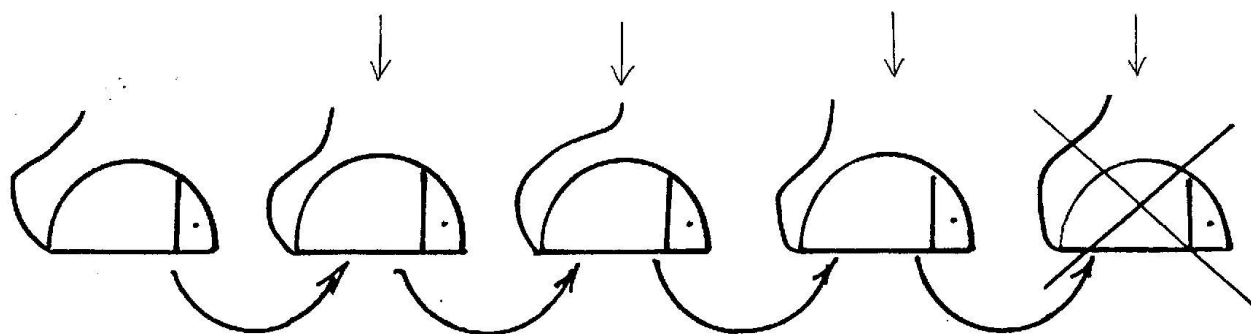


Рис.3. Серийные трансплантации костного мозга смертельно облученным мышам.
Вертикальные стрелки – рентгеновское облучение
Полукруглые стрелки – трансплантация костного мозга

Ограниченная способность клеток к пролиферации побудила многих геронтологов, вслед за Хейфликом, считать эту закономерность основой естественного старения организмов.

О причинной связи между старением клеток и старением организмов свидетельствует также хорошая корреляция лимита Хейфлика с видовой продолжительностью жизни животных (см. Табл.1). Для млекопитающих, птиц и земноводных такая корреляция сомнений не вызывает. Что касается рыб, пресмыкающихся и других групп организмов, то этот вопрос удобнее обсудить в последующих разделах.

Так или иначе, становилось ясно, что причина ограниченной способности клеток к пролиферации лежит в самих клетках, а не в условиях их размножения и культивирования: клетка каким-то образом «знает», сколько раз она уже поделилась. Иными словами, при каждом митозе в клетке что-то меняется – либо закономерно накапливается, либо безвозвратно теряется. На вопрос, что же это такое, ответил в 1971 г., через 10 лет после первой работы Хейфлика, в



Рис.4. А.М.Оловников

теоретической работе
 российский исследователь
 А.М.Оловников (Рис.4),
 доказавший, что при каждом
 митозе укорачиваются
 концевые участки хромосом
 - теломеры (Оловников,
 1971; Olovnikov, 1973). Еще
 через 10-15 лет данное
 Оловниковым объяснение
 было блестяще подтверждено
 экспериментально группой

американских геронтологов (Szostak, Blackburn, 1982; Greider, Blackburn, 1987),
 получивших за это Нобелевскую премию по физиологии и медицине за 2009
 год (Рис.5).

Лауреаты Нобелевской премии по физиологии и медицине за 2009 г.

За открытие теломерной защиты
 хромосом и фермента теломеразы



Элайзабет Х.
 Блекборн



Кэрол В.
 Грейдер



Джек В.
 Шостак

Рис.5. Лауреаты Нобелевской премии 2009 г.

ТЕЛОМЕРНАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ

Впервые теломеры были обозначены как особые структуры на концах хромосом в 1930-х годах американским генетиком Г.Мёллером, работавшим в то время в СССР (Müller H., 1932), и советским генетиком Ф.Добжанским, (Dobzhansky Th., 1937), работавшим тогда в США.

Теломеры человека – концевые участки хромосом – содержат от 4 до 15 тысяч пар оснований и состоят из повторяющихся последовательностей TTAGGG. Теломера заканчивается однонитевым нависающим 3'- концом, завернутым в структуру, называемую t-петлей, которая не позволяет концам хромосом соединяться друг с другом; при этом однонитевый конец теломеры проникает в прилегающий к t-петле двунитевый участок, образуя D-петлю (displacement loop), закрепляющую t-петлю

При каждой репликации хромосом теломеры укорачиваются, т.е. дочерняя ДНК оказывается несколько короче материнской. Механизм укорочения теломер при каждой репликации, впервые описанный в 1971 г. (Оловников, 1971; Olovnikov, 1973), приведен на схеме (Рис.6): отстающая нить

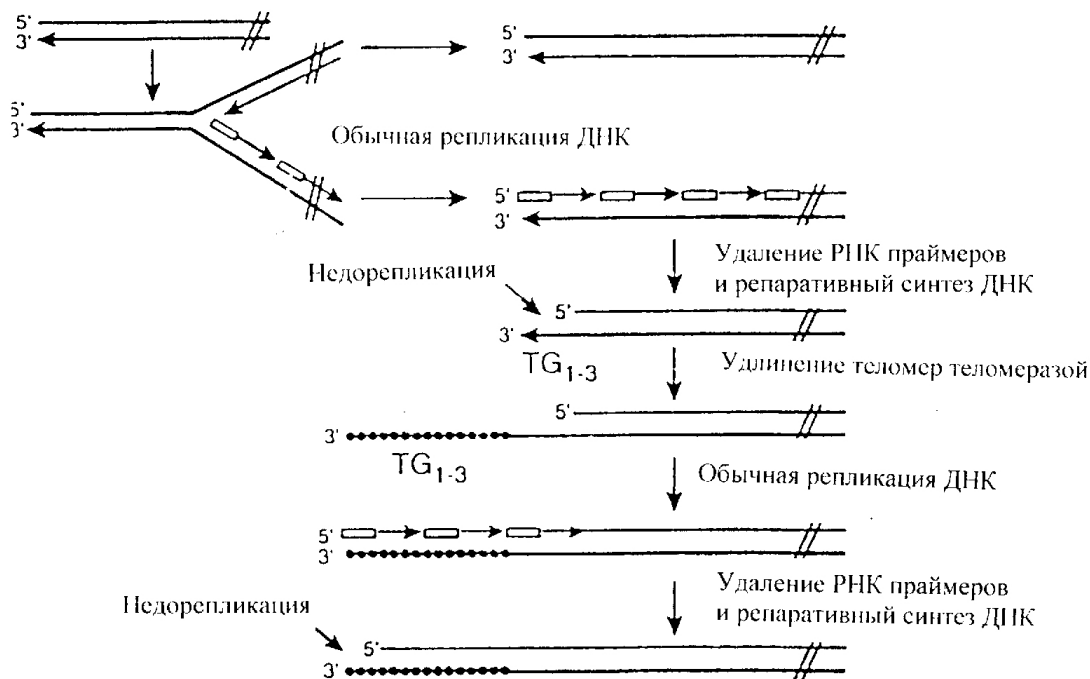


Рис.6. Схема укорочения теломер.

дочерней ДНК, копируемая отдельными фрагментами, не может быть полностью скопирована на самом конце теломеры, поскольку ДНК-полимераза неспособна синтезировать дочернюю копию ДНК с самого конца цепи – она может лишь добавлять нуклеотиды к уже имеющейся 3'-гидроксильной группе, т.е. нуждается в праймере.

Идентифицирован комплекс из 6 теломер-связанных белков, названный шелтерином (De Lange, 2005): TRF1 (Telomere repeat binding factor 1) – негативный регулятор длины теломер, не допускающий теломеразу к теломере; TRF2 (Telomere repeat binding factor 2) – поддерживает целостность теломер, защищая от слияния друг с другом; TIN2 (TRF1-interacted nuclear protein 2) – препятствует присоединению теломеразы к теломере; RAP1 (Rif-associated protein) – с С-концом этого белка связывается белок (белки) Rif1 и Rif2 (Relaxing insulin-like factors), препятствующие работе теломеразы, он удерживает t-петлю, образуя поперечные сшивки с теломерной ДНК; POT1 (Protection of telomeres) – защищает G-богатую нависающую нить ДНК, располагаясь в олигонуклеотид/олигосахаридном связующем сгибе в теломерах, препятствует слиянию теломер конец-в-конец; TPP1 (Telomere protected protein 1) – образуя гетеродимер с POT1, присоединяется к однострелковой теломерной ДНК, защищая ее от повреждений.

После уже упомянутого открытия в лаборатории Э.Блекборн фермента теломеразы (Greider, Blackburn, 1987), восстанавливающего исходную длину теломер, необходимость существования которого постулировалась еще в первой из работ Оловникова (Оловников, 1971)², было экспериментально показано, что активация теломеразы в истощивших лимит Хейфлика клетках действительно приводит к возобновлению пролиферации (Bodnar et al., 1998). Казалось, что механизм старения стал, наконец, понятен, по крайней мере, вчерне.

² Вот цитата из этой работы А.М.Оловникова: «Тандем-полимераза или изозимы должны присутствовать в клетках, способных к бесконечному удвоению генома, например, в опухолевых клетках, половых и в ряде других.

Фермент теломераза состоит из двух основных субъединиц, кодируемых разными генами: 1. TR или TER (Telomerase RNA component) – матричная теломеразная РНК, и 2. TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) – теломеразная обратная транскриптаза. TR экспрессируется во всех клетках, а TERT – только в гаметах и в трансформированных (раковых), а также ограниченно в стволовых клетках, и только при наличии обеих субъединиц теломераза активна.

С открытием теломеразы получали объяснение ранее непонятные, хотя и бесспорные факты: отсутствие лимита Хейфлика (клеточного старения) в опухолевых клетках объясняется наличием в них теломеразной активности, а то, что дети начинают стареть каждый раз с нуля, а не с того уровня, до которого успели постареть клетки их родителей к моменту зачатия – наличием теломеразы в гаметах (Eisenhauer et al., 1997; Turner, Hartshorne, 2013).

Серьезным подтверждением основополагающей роли укорочения теломер в старении человека служат исследования клеток людей, страдающих прогериями – очень, к счастью, редкими болезнями преждевременного старения. Здесь четко прослеживается корреляция между старением на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Известны всего несколько подобных заболеваний истинного преждевременного старения:

Табл.2.
Наследственные болезни преждевременного старения

Синдром	Наследование	Генетический дефект	Средняя продолжит. жизни	Лимит Хейфлика	Молекулярные изменения
Синдром Хатчинсона-Гилфорда (Hutchinson-Gilford)	аутосомно-рецессивное	мутация в гене <i>LMNA</i> (дефект ламина-А)	15-20 лет	Резко снижен	Врожденно укороченные теломеры
Атаксия-телеангиэктазия	аутосомно-рецессивное	мутация в гене <i>ATM</i> (протеинкиназа)	30-40 лет	Снижен	Врожденно укороченные теломеры
Синдром Вернера (Werner)	аутосомно-рецессивное	мутация в гене <i>WRN</i> (геликаза)	30-40 лет	Снижен	Ускоренное укорочение теломер

синдром Хатчинсона-Гилфорда, синдром Вернера и атаксия-телеангиэктазия, иначе называемая синдромом Луи-Бар (**Табл.2**). Патогенез всех этих болезней разный, но во всех случаях теломеры в клетках таких больных оказались от рождения, либо в первые годы жизни, резко укороченными (в разной степени при разных формах прогерий), лимит Хейфлика – существенно ограниченным, и фенотипические проявления старения – атеросклеротические изменения сердца и сосудов, возрастные изменения в других органах, истончение и морщинистость кожи, пресбиопия, поседение и потеря волос и другие симптомы старения (**Рис.7-9**) – развиваются у таких больных значительно



Рис.7. Больная синдромом Хатчинсона-Гилфорда, 10 лет.



Рис.8. Больной синдромом Вернера, 21 год.



Рис.9. Клинические проявления при атаксии-телеангиэктазии.

- мозжечковая атаксия и другие неврологические патологии разной степени тяжести :
 - затрудненная речь
 - нарушение координации движений
- наличие телеангиэктазов (очаговой дилатации сосудов с истончением их стенки)
- пониженный иммунный статус (ослабление В- и Т-клеточных систем иммунитета, снижение сывороточного содержания IgG2 или IgA), в большей степени подвержены инфекционным заболеваниям (высокий риск легочных инфекций)
- высокий риск развития опухолей

раньше, чем у лиц, стареющих с нормальной скоростью (Allsop et al., 1992; Wyllie et al., 2000; Dreesen et al., 2013).

Таким образом, причинная связь естественного старения организмов с репликативным старением клеток в подобных случаях сомнений не вызывает (Mikhelson, 2001; Herbig et al., 2006).

Данные о механизмах ускоренного старения при прогериях представляются очень существенными для понимания механизмов естественного старения человека, и мы сочли необходимым вынести их обсуждение в отдельное приложение к настоящему обзору (см. Приложение, стр.47).

ОБЪЯСНЕНИЕ КАЖУЩИХСЯ ПРОТИВОРЕЧИЙ ТЕЛОМЕРНОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ

Однако вскоре после описанных выше открытий А.М.Оловникова и лаборатории Е.Блекборн появились факты, которые казались противоречащими теломерной теории старения. Прежде всего, не удавалось обнаружить сколько-нибудь четкой обратной корреляции между остаточным лимитом Хейфлика (либо остаточной длиной теломер) и возрастом донора. В клетках глубоких стариков, обследовавшихся незадолго до естественной смерти, длина теломер мало отличается от таковой в клетках молодых доноров, и во всяком случае остается далекой от исчерпания (Mondello et al., 1999; Cristofalo et al., 2004; Смирнова и др., 2012, и мн. др). Достаточно длинными остаются теломеры и, например, в нейронах человека, прекративших пролиферацию (Buchholz et al., 2007). Наконец, в клетках белых мышей теломеры оказались в десять раз длиннее, чем в клетках человека (Tomás-Loba et al., 2013), в то время как мышь живет три года, а человек существенно дольше.

Все эти факты заставили многих геронтологов отказаться от теломерной теории старения и вернуться к теории накопления кислородных повреждений, предложенной еще в середине прошлого века (Harman, 1956). В справедливости теломерной теории по существу усомнился даже Леонард Хейфлик (Hayflick, 1998), фактически стоявший у ее истоков, а сам автор теломерной теории Алексей Оловников (Olovnikov, 2007) предложил другой ее вариант, пока, впрочем, экспериментально не подтвержденный. Действительно, имеются бесспорные данные, согласно которым повреждения, вызываемые в клетках активными формами кислорода (АФК), способствуют ускорению старения, а различные антиоксиданты, напротив, замедляют старение (Terlecky et al., 2006; Kim, Cun, 2007; Skulachev et al., 2009; Skulachev, 2011). Это, однако, само по себе не означает, что повреждение клеток активными формами кислорода (АФК) является механизмом старения.

Ниже мы постараемся показать несправедливость имеющихся возражений против теломерной теории старения, объяснить в рамках этой теории по возможности все её кажущиеся противоречия, и в то же время продемонстрировать несостоятельность окислительной теории как самостоятельной теории старения.

Мы исходим из того, что факты, обычно рассматриваемые как противоречащие теломерной теории старения, в действительности ей не противоречат. Было бы несерьезно ожидать наличия обратной корреляции между возрастом донора и длиной теломер во **всех** клетках организма. Столь же несерьезным было бы ожидать, что организм умирает в результате остановки пролиферации **всех** его клеток. Организм – не мешок, наполненный одинаковыми клетками. Клетки в разных тканях делятся с разной скоростью и по разным программам и причинам. Кроветворные клетки делятся непрерывно и интенсивно на протяжении всей жизни. Клетки кожи и слизистых делятся по мере гибели имеющихся, компенсируя их убыль, и интенсивность их деления зависит от интенсивности гибели клеток в данном участке кожи. Клетки печени в норме у взрослого человека не делятся, но при повреждении печени, химическом или механическом, митозы возобновляются. Наконец, нейроны мозга в постнатальный период не делятся вовсе. Большинство работ, сопоставляющих длины теломер или лимит Хейфлика с возрастом донора, выполнены на культурах фибробластов кожи, а кожа, подвергаясь самым значительным внешним воздействиям, представляет собой мозаику клеток с различной репликативной историей и разным остаточным репликативным потенциалом (Francheschi et al., 1999; Mikhelson, 2001), чем и объясняется невозможность получить сколько-нибудь четкую обратную корреляцию между этими показателями и возрастом донора.

Впрочем, в лимфоцитах периферической крови (Njajou, 2007; Barwell et al., 2007; Hohensinner et al., 2011), которые, в отличие от фибробластов кожи, не столь подвержены разнообразным внешним воздействиям, показана бесспорная обратная корреляция между длиной теломер и возрастом донора

(продемонстрировать на лимфоцитах обратную корреляцию возраста донора также и с лимитом Хейфлика, к сожалению, не удастся из-за краткости размножения митоген-стимулированных лимфоцитов крови *in vitro*).

Каким же образом в таком случае укорочение теломер может служить причиной старения и ограничения продолжительности жизни?

Очевидно, что для старения и смерти от старости вовсе не обязательно, чтобы лимит Хейфлика был исчерпан во **всех** клетках и тканях организма. Достаточно истощения пролиферативного потенциала клеток в каком-то отдельном участке одной из тканей какого-либо органа, что повышает вероятность развития характерных возрастных болезней – рака, инсульта, сердечной недостаточности, инфаркта, и т.п. Эти болезни, разумеется, могут возникать и в более молодом возрасте, и не обязательно в результате истощения лимита Хейфлика, однако в участке ткани, где лимит пролиферации клеток исчерпан и группа клеток поставлена перед необходимостью либо преодолеть лимит Хейфлика (рак), либо погибнуть (инсульт, инфаркт), возникновение этих заболеваний практически неизбежно. Для рака это показано достаточно четко. Механизм развития рака в результате истощения клетками пролиферативного потенциала представляется следующим: более активная пролиферация эпителиальных клеток в некоем участке ткани приводит к критическому укорочению теломер. В сочетании с инактивацией определенных генов соматическими мутациями, также накапливающимися с возрастом, это может приводить к тому, что клетки преодолевают (обходят, *by-pass*) лимит Хейфлика. Продолжающаяся пролиферация за пределы лимита Хейфлика ведет к дальнейшему прогрессивному истощению теломер и запуску в этих клетках хромосомных разрывов, слияний и мостов с последующей анеуплоидией и транслокациями, что и приводит к раннему канцерогенезу *in situ*, а включающаяся экспрессия теломеразы – к активному злокачественному росту (Maser, DePinho, 2004). Роль местного укорочения теломер в развитии рака показана на карциномах легких (Freitag et al., 2000; Frias et al., 2007), грудной

железы (Li et al., 2002); печени (Dumble et al., 2002); кишечника (Kanamaru et al., 2002); нейробластоме (Ohali et al., 2006); саркоме Эвинга (Avigad et al., 2007).

Подобные же механизмы предложены для объяснения развития инсульта (Martin-Ruiz et al., 2006; Zhang et al., 2007) и сердечной недостаточности (Aviv, 2002). Что касается постмитотических клеток (кардиоциты, нейроны), то на их состоянии, сопряженном с функционированием снабжающих их сосудов, может неблагоприятно сказываться состояние тех групп клеток, которые исчерпали свой пролиферативный потенциал и тем самым снизили гомеостатические возможности всего организма.

С возрастом число участков в тканях организма, где клетки исчерпали свой пролиферативный потенциал, постепенно увеличивается, и тем быстрее, чем интенсивнее делятся клетки в организме в целом и в том или ином участке ткани в частности. Соответственно, с возрастом увеличивается и вероятность развития вышеперечисленных заболеваний. В конце концов даже самая передовая медицина не может справиться с нарастающим валом старческих болезней: человека излечивают от рака, но он умирает от инсульта или от сердечной недостаточности, либо от иной характерной болезни пожилого возраста. Здесь необходимо отметить, что ионизирующая радиация, убивающая часть клеток, способствует компенсаторной ускоренной пролиферации клеток, оставшихся неповрежденными, и тем самым ускоренному укорочению теломер и ускоренному старению организма – лучевое старение (Воробцова, Семенов, 2006).

Что касается причины существования длинных теломер в клетках мышей, то это пока остается не до конца понятным, однако известно, что столь длинные теломеры характерны только для белых мышей (и некоторых других экспериментальных форм мышей), которые в природе не встречаются и искусственно выведены человеком. Почему в клетках белых мышей теломеры такие длинные, остается неясным (Yegorov et al., 2001; Goytisolo et al., 2001; Blasko, 2005; Neumann et al., 2013), однако в клетках серых мышей – домовых и

полевых, живущих в естественных условиях, теломеры имеют нормальную длину, соответствующую продолжительности их жизни (Hemann, Greider, 2000; Manning et al., 2002; Hao et al., 2005). Так или иначе, теломеры и у белых мышей укорачиваются при каждом митозе, как и у прочих животных; разница лишь в том, что остановка пролиферации в клетках белых мышей происходит при большей остаточной длине теломер, так что само по себе наличие длинных теломер у мышей не нарушает четкой связи между укорочением теломер и репликативным старением.

НЕСПОСОБНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ ОБЪЯСНИТЬ ИМЕЮЩИЕСЯ ФАКТЫ

Сама по себе способность АФК в той или иной степени ускорять естественное старение не вызывает сомнений. Однако до сих пор остается совершенно непонятным, какие именно повреждения в клетке, вызываемые АФК, приводят к старению. Со времен первых работ Хармана (Harman, 1956) сторонники окислительной теории старения говорят вообще о накоплении повреждений в белках и ДНК. Попытки конкретизации не удаются, и механизм, с помощью которого АФК могут вызывать старение, продолжает оставаться неясным.

Выше уже обращалось внимание на то, что теломерная теория старения объясняет по крайней мере два не объясненных ранее, но бесспорных факта: почему новорожденные начинают стареть каждый раз с нуля, а не с того уровня, до которого успели постареть клетки родителей к моменту зачатия, и почему клетки злокачественных опухолей не подвержены репликативному старению и делятся неограниченно.

Окислительная теория старения не в состоянии объяснить этих фактов и вызывает соответствующие вопросы:

1. Почему окислительные повреждения, вызываемые АФК, не накапливаются в гаметах, а если накапливаются, то куда они исчезают при образовании зиготы?
2. Почему окислительные повреждения не накапливаются в трансформированных клетках, а если накапливаются, то почему не препятствуют пролиферации этих клеток? Тем более, что в трансформированных клетках часто образуется не меньше, а больше АФК, чем в диплоидных (Гамалей и др., 2001).

Окислительная (свободнорадикальная) теория старения Хармана, предложенная более 70 лет назад, со временем была усовершенствована и рассматривает не только свободные радикалы, но и такие реактивные формы кислорода, как пероксид водорода (H_2O_2) и синглетный кислород. В 1972 г.

Харман идентифицировал митохондрии и как основной источник АФК, и как основную мишень повреждений (Harman, 1972), а сама теория часто формулируется более конкретно – митохондриальная теория старения (МТС). Центральным звеном в механизме повреждения рассматривается митохондриальная ДНК (митДНК) (Price et al., 1979; Wheeler, Lett, 1974; Alexeyev 2009), а повреждающим фактором – АФК, генерируемые митохондрией, причем, как полагает эта теория, в большом количестве. Однако митохондрия – не единственный источник этих малых окисляющих молекул. Харман создавал свою теорию, когда сведения о механизмах генерации АФК в клетке и системах защиты от них были чрезвычайно скупы.

Митохондрия – энергетическая лаборатория клетки, и ее главное назначение – генерация АТФ. АФК в митохондриях являются результатом утечки электрона из митохондриальной электронно-транспортной цепи. Кроме того, в митохондриях млекопитающих есть, по крайней мере, 9 сайтов (ферментов), на которых в разных физиологических условиях могут образоваться АФК (Андреев и др., 2005). Важно иметь в виду, что утверждение о производстве больших количеств АФК митохондриями базируется в основном на оценках митохондриальной продукции АФК в нефизиологических условиях (Boveris et al., 1972). Более того, взаимоотношения между главными производителями АФК – митохондриями и NADPH-оксидазой (и некоторыми другими системами) до сих пор не выяснены (Dikalov, 2011), поэтому трудно, если вообще возможно, выявить главный источник АФК в клетке.

В настоящее время нет четкого определения окислительной (митохондриальной) теории старения, но ее доказательной базой являются следующие утверждения. 1) Митохондрии – источник больших количеств АФК, создающих окислительный стресс, в результате которого повреждается митДНК; 2) окислительные повреждения митДНК вызывают мутации митДНК, которые ведут к появлению дефектных компонентов электронно-транспортной цепи митохондрий; 3) наличие дефектных компонентов в электронно-транспортной цепи увеличивает продукцию АФК, вызывающих

дальнейшие мутации митДНК и повреждения клетки (т.е. возникает «порочный круг»). Все вместе взятое (АФК, мутагенез ДНК, повреждение клетки), накапливаясь до определенного предела, останавливает жизнь клетки и всего организма. Таким образом, согласно МТС, митохондрии предстают как некие биологические часы, определяющие продолжительность жизни. Однако в силу биохимической и структурной сложности митохондрий, а также их многофункциональности, вопрос о молекулярной идентичности этих часов остается открытым. Какая молекула может претендовать на роль таких часов? Различные макромолекулы с короткой продолжительностью жизни (РНК, белки и др.) не могут быть подходящими кандидатами на роль молекул, накапливающих и «считающих» повреждения в течение всей жизни. Именно поэтому митДНК рассматривается в качестве главной мишени повреждения.

За полвека, прошедших со времени возникновения окислительной теории старения, проведено большое количество экспериментальных исследований, стремившихся доказать ее правоту. Однако экспериментальные результаты чрезвычайно противоречивы и не могут ни подтвердить, ни опровергнуть теорию. Критический разбор доказательной базы МТС позволил выявить ее слабые места и сделать ряд выводов, которые кратко сводятся к следующим пунктам (Alexeyev, 2009; Van Remmen, Jones 2009).

1. Одно из объяснений противоречивости данных заключается в том, что сами методы исследования митохондрий таят в себе много ошибок, которые начинаются с выделения этих органелл. Уверенности в том, что данные, полученные на выделенных митохондриях, можно без поправок отнести к митохондриям внутри клетки, нет. Сама процедура выделения митохондрий может приводить к селективной изоляции только наиболее здоровых митохондрий, а возможно, что вся популяция митохондрий компрометируется процедурой выделения. Поскольку некоторые ткани (мышечная, сердечная) имеют разные популяции митохондрий, различающиеся по локализации и функции, возникает вопрос, различаются ли митохондрии внутри одной клетки? Касаются ли возрастные изменения всех популяций митохондрий? Для

правильной оценки функций митохондрий *in vivo* необходимо разрешение этих вопросов. Другая причина – недостаток точных тестов для оценки самих окислительных повреждений митохондрий. И, наконец, ключевой вопрос – действительно ли дисфункция митохондрий коррелирует с дисфункцией ткани, и это, в конечном итоге, сокращает жизнь. Из экспериментов *in vitro* хорошо известно, что АФК повреждают ДНК, однако неясно, легко ли повреждается митДНК *in vivo*.

Когда Харман (Harman, 1956) создавал свою теорию, мало что было известно об антиоксидантной защите клетки вообще и митохондрий, в частности. Ключевой фермент антиоксидантной системы – супероксиддисмутаза (СОД) открыт значительно позже (McCord, Fridovich, 1969). СОД, способствующая дисмутации супероксидного аниона и образованию перекиси водорода, вездесуща, присутствует во всех компартментах клетки. Многочисленные пероксидазы, каталаза и редоксины разлагают перекиси. Это уже означает, что уровень АФК в клетке регулируется. Регуляция уровня АФК в клетке осуществляется не только антиоксидантными ферментами, но и транскрипционным фактором Nrf2, от активности которого зависит уровень антиоксидантных систем в клетке и ее редокс-баланс. Системы удаления АФК в митохондриях в настоящее время тоже достаточно хорошо изучены и включают глутатион, глутатионредуктазу, глутатион-S-трансферазу, глутатионпероксидазу гидроперекисей фосфолипидов, каталазу, СОД, цитохром *c*, перроксиредоксины и др. (Андреев и др., 2005). Невозможно сделать конкретный вывод о причинах возникновения (и о самом возникновении вообще) в условиях *in vivo* в митохондриях дисбаланса между АФК и их ликвидаторами и создания окислительного стресса, при котором повреждается митДНК.

2. Нет прямых доказательств того, что именно молекулярные повреждения митДНК ведут к старению. Нет данных и о количестве мутаций в митДНК и о легкости их накопления в количествах, способных вызвать процесс старения. Исследование корреляции между возрастом мыши и мутациями в

митохондриях показало, что многократное увеличение точечных митохондриальных мутаций не ускоряет старение (Khrapko et al., 2006; Vermulst et al., 2007). Хотя нокаут мышей по гену ДНК-полимеразы-гамма приводил к увеличению скорости спонтанных мутаций митДНК, к апоптозу и ускоренному старению (Yamasoba et al., 2007). Прямое увеличения мутагенеза митДНК показывает, что накопление мутаций в митДНК действительно ускоряет старение (Kujoth et al., 2005; Trifunovic et al., 2004), но оно не связано с окислительным стрессом (Trifunovic et al., 2005).

3. Если митохондрия, накапливая окислительные повреждения, определяет конец судьбы клетки и ткани, то, казалось бы, сама свободно-радикальная теория предлагает способы вторжения в процесс старения и возникновения возрастных болезней – предотвратить поражения в клетках и митохондриях с помощью антиоксидантов, т.е. ликвидировать постоянно накапливающиеся избытки АФК. МТС тестировали во многих исследованиях на моделях животных, и беспозвоночных, и позвоночных. Сколь велико было возбуждение исследователей в начале «эры антиоксидантов», столь велико разочарование сегодня, поскольку анализ работ не позволяет сделать конкретные выводы (Muller et al., 2007; Jang, Remmen, 2009). Большинство пионерских работ на мышах, тестирующих МТС с помощью антиоксидантов и трансгенных животных, либо не поддерживают теорию, либо просто не убеждают. Единственным исключением считаются эксперименты с оверэкспрессией каталазы в митохондриях трансгенных мышей, в результате которых действительно удлинялась жизнь животных (Jang, Remmen, 2009). Однако у каталазы низкое сродство к H_2O_2 , и она не вносит существенного вклада в ее разложение в митохондриях в экспериментальных условиях; в физиологических условиях это делает глутатионпероксидаза. При этом увеличение продолжительности жизни трансгенных животных происходило не из-за уменьшения уровня перекиси водорода, а, возможно, по причине окисления низкомолекулярных субстратов в матриксе митохондрий за счет пероксидазной активности каталазы (Antunes et al., 2002; Park et al., 2013).

Необходимо понимать, что избыток антиоксидантных ферментов и недостаток в клетке АФК может приводить к нежелательным последствиям. Так, у трансгенных мышей с оверэкспрессией каталазы снижена способность макрофагов проникать в ишемические ткани (Hodara et al., 2011).

4. Очередной удар по МТС нанесли многолетние клинические испытания действия различных антиоксидантов на людей. Их результаты суммированы в статье американского исследователя Howes (2006), вызывающе озаглавленной «Свободно радикальная фантазия. Сплошные парадоксы». В экспериментах участвовали более 550000 человек. Испытывалось действие антиоксидантов: альфа-токоферола, бета-каротина, ретинола, витаминов А, С и Е в виде пищевых добавок, порознь и в разных сочетаниях на протяжении многих лет. Результаты оказались удручающими. Антиоксиданты не только не останавливали старение и болезни, но оказывались опасными для здоровья и даже смертельными, увеличивая риск сердечно-сосудистых заболеваний, рака и др. Пищевые добавки витамина Е, С и А (β-каротина) вызывали незначительное, но увеличение в крови холестерина, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов. Т.о., испытания антиоксидантов не подтверждают МТС. И Howes (2006) делает вывод: **свободнорадикальная теория потерпела поражение.**

Окислительная (свободнорадикальная) теория прочно утвердила представление об АФК как о носителях зла. Однако хорошо известно, что АФК не являются исключительно побочными или случайными продуктами жизнедеятельности клетки. В качестве вторичных посредников АФК вовлечены во многие сигнальные пути клетки (Gamaley, Klyubin, 1999; Stone, Yang, 2006). Без них не обходятся сигнальные каскады, ведущие к пролиферации, росту, дифференцировке и другим процессам. Поэтому понижать уровень АФК в клетке опасно для ее нормального функционирования, и клетка с помощью специальных механизмов генерации АФК (прежде всего NADPH-оксидазы) и их ликвидации (антиоксидантных ферментов и транскрипционного фактора Nrf2) стремится поддерживать тот окислительно-восстановительный баланс,

который необходим ей в каждом физиологическом состоянии. В случае избытка АФК, возникшего по тем или иным причинам, H_2O_2 может включаться в сигнальные пути, ведущие к росту и митогенезу (Bae et al., 1999; Radisavljevic et al., 2004; Azadzoï et al., 2010), а может способствовать и клеточному старению. Отсутствие контролируемого окислительно-восстановительного баланса в нетрансформированной клетке ведет к возникновению болезней разной степени тяжести, которые совсем не обязательно связаны с возрастом и старением организма (см. стр.61).

Высказываются точки зрения, что АФК могут способствовать старению не через частные молекулярные повреждения, а действуя на специфические генетические программы: несущественные для жизнеспособности поломки, которые АФК могут вызывать в клетке, являются лишь побочными продуктами процесса старения (Sohal, Allen, 1991). Новую точку зрения на старение предлагает Благосклонный (Blagosklonny, 2008). Согласно его TOR-центрической модели, старение – это результат последовательной оверактивации рост-промотирующих сигнальных путей, таких как TOR (target of rapamycin). TOR-пути, в активации которых участвуют АФК, управляют старением не через накопление молекулярных повреждений, а через гиперфункционирование клетки и ее органелл.

Нельзя не заметить, что почти все теории для объяснения старения так или иначе привлекают АФК, однако несостоятельность попыток объяснить механизм старения с помощью одних лишь окислительных повреждений вызывает в последние годы многочисленные гипотезы о мультифакторном механизме старения (см. обзоры: Cristofalo et al, 2004; Terlecky et al., 2006; Buchholz et al., 2007). Терлецки перечисляет механизмы, ведущие к естественному старению: укорочение теломер, повреждения белков и ДНК, ошибки репарации, эпигенетические явления, повреждение клеток накапливающимися АФК. Нам представляется маловероятным, что механизмов старения может быть несколько: для этого слишком постоянны и единообразны

как характер развития возрастных изменений, так и естественная продолжительность жизни каждого вида организмов.

Итак, не найдено ответа на поставленные в начале этого раздела вопросы. Нет ни малейшего сомнения в том, что АФК способны ускорять естественное старение как *in vitro*, так и *in vivo*, но в огромной массе накопленных данных о роли АФК в старении очень трудно выявить собственно механизм, с помощью которого окислительные повреждения могут **вызывать** старение. Единственным таким механизмом представляется **ускорение укорочения теломер** повреждениями, вызываемыми АФК в теломерной ДНК.

И еще одно общее соображение: если бы причиной старения было накопление окислительных повреждений, то естественная продолжительность жизни, в первую очередь – человека, была бы гораздо разнообразнее, чем это наблюдается в действительности. У одних накопление окислительных повреждений приводило бы к старению и смерти, скажем, к 20 годам, другие могли бы жить по несколько столетий, в зависимости от условий жизни. Между тем существует совершенно определенная естественная продолжительность жизни человека. Разумеется, кто-то умирает в более молодом возрасте, но не от старости. А старение, одряхление наступает у всех людей примерно в одном и том же возрасте – порядка 80-100 лет.

УСКОРЕНИЕ СТАРЕНИЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АФК ТАКЖЕ ЯВЛЯЕТСЯ РЕЗУЛЬТАТОМ УКОРОЧЕНИЯ ТЕЛОМЕР

В 1990-х Томас фон Зглиницкий и сотрудники (Von Zglinicki et al, 1995) впервые продемонстрировали, что окислительные повреждения, вызываемые АФК, сами по себе способны укорачивать теломеры. В первую очередь укорочения теломер могут происходить в результате разрывов нити ДНК, репарация которой малоэффективна именно в одностранных концах теломер из-за отсутствия противоположной нити (Von Zglinicki et al, 2000; Von Zglinicki, 2002; Passos, Saretzki, Von Zglinicki, 2007; Passos, Miwa, Von Zglinicki, 2013). Любой разрыв в одностранный концевой участке теломеры ведет к потере дистальной части теломеры и, в зависимости от места разрыва, может укорачивать ее гораздо более существенно, чем неполная репликация при каждом митозе. Т.е., неполная репарация теломерной ДНК может играть даже более важную роль в клеточном старении, чем неполная репликация (Von Zglinicki et al, 2000). Действительно, неполная репарация ДНК затрагивает все клетки организма, тогда как неполная репликация - только делящиеся клетки. Тот же коллектив авторов показал, что митохондриальные нарушения, приводящие к повышенному образованию АФК, ускоряют укорочение теломер, что в свою очередь ведет к ускоренному клеточному старению (Westhoff et al., 2009). Неэффективность репарации теломерной ДНК при разрывах в одностранных участках подтверждается и другими исследованиями на клетках человека (Ayoub et al., 2008).

Отчетливая корреляция окислительных повреждений с короткими теломерами показана и на клетках мышей (Newman et al., 2008). Именно неполная репарация, в большей степени, чем неполная репликация, может служить главной причиной различных связанных со старением заболеваний, упомянутых выше. Действительно, показано, что теломеры укорачиваются в клетках пораженных атеросклерозом участков сосудов (Okuda et al., 2000; Ogami et al., 2004), в β -клетках при диабете (Yoon et al., 2003) и пр.

Т.о., повреждения, вызываемые АФК, скорее могут лишь ускорять естественное старение, вызываемое укорочением теломер. Скорость укорочения теломер действительно в значительной степени определяется накоплением в ДНК повреждений, вызываемых АФК (Passos, Von Zglinicki, 2006). Существуют и другие факторы, способные ускорять естественное старение: повреждения, вызываемые ионизирующей радиацией (Воробцова и др., 2006; Castella et al., 2007), особенности питания (Marcon et al., 2012) и даже психологический стресс (Epel et al, 2004; Peres, 2011), однако это не значит, что лучевые повреждения или психологический стресс являются механизмами старения. Более того, все эти воздействия скорее всего ускоряют старение именно потому, что способствуют ускоренному укорочению теломер.

СПЕЦИФИКА ЛУЧЕВОГО СТАРЕНИЯ

В принципе ускорение старения под действием ионизирующей радиации происходит в соответствии с тем же механизмом, что и под действием АФК: лучевые повреждения теломерных участков хромосом, подобно окислительным повреждениям этих участков, ведут к дополнительному укорочению теломер и тем самым к ускорению старения по теломерному механизму.

Помимо этого, сколько-нибудь значительные дозы ионизирующей радиации приводят к массовой гибели клеток, что вызывает в пролиферирующих тканях компенсаторное размножение клеток, не затронутых лучевым повреждением. Ускоренная пролиферация ведет к ускоренному укорочению теломер и тем самым к ускоренному старению организма, которое действительно наблюдается у лиц, подвергшихся действию ионизирующей радиации (Воробцова, Семенов, 2006; Михельсон, Гамалей. 2009; Vávrová, Rezáčová, 2011). Т.о., механизмом лучевого старения также служит укорочение теломер.

О НЕСТАРЕЮЩИХ ВИДАХ ЖИВОТНЫХ

Принято считать, что некоторые группы животных не стареют: черепахи, крокодилы, некоторые виды рыб, и ряд других. Наиболее важной общей характеристикой этих видов является постоянный рост в течение всей жизни. Действительно, в клетках этих животных постоянно экспрессируются оба компонента теломеразы, в т.ч. TERT, который в клетках млекопитающих и человека экспрессируется только в гаметах, в стволовых и трансформированных клетках. Постоянная экспрессия TERT приводит к тому, что такие животные если и стареют, то очень медленно – так называемое “minor aging” (Finch, 1990; Kishi et al., 2003; Kawagoushi et al., 2008).

Единственное животное, которое действительно совершенно не стареет – это амеба. Амебы могут размножаться делением неограниченно долго. У амеб нет старения и нет естественной смерти, в их ядрах постоянно экспрессируется TERT (Eichinger et al., 2005; Felder et al., 2005). При этом особенно интересно, что амебы – не только единственная группа животных, которые не стареют, но и единственная группа, не имеющая полового размножения. Половое размножение есть у всех других простейших. Оно есть даже у бактерий. У амеб его нет!

Это единственное исключение позволяет сделать некоторые общие выводы, касающиеся всех живых существ: природа дает всем животным, в том числе и человеку, возможность бессмертия. Но это бессмертие – не индивидуальное (не персональное, если говорить о человеке), а дается нам в поколениях. Жизнь индивидуума ограничена вследствие укорочения теломер, но наши дети являются нашим продолжением благодаря половому размножению, сохраняющему генофонд, и экспрессии теломеразы в гаметах, восстанавливающей исходную длину теломер.

Амебы же лишены естественной смерти и поэтому не нуждаются в половом размножении.

НЕКОТОРЫЕ ГИПОТЕЗЫ И ТЕОРИИ О МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ, КОНКУРИРУЮЩИЕ С ТЕЛОМЕРНОЙ

Выше уже упоминалось о том, что существовало и существует множество различных теорий и гипотез о механизмах старения, отличных от теломерной. Значительная часть из них в последние годы вышла из употребления. В настоящем обзоре мы уделили основное внимание несостоятельности наиболее распространенной – окислительной теории старения. Кратко остановимся здесь на нескольких других, имеющих определенную поддержку.

Теории накопления повреждений ДНК (репарационные теории старения).

Согласно этим теориям, старение – результат накопления в ДНК повреждений, не подвергшихся процессу репарации, т.е. любых изменений, нарушающих нормальную структуру ДНК. Наиболее известная теория старения из этой группы (Orgel, 1973) не придает существенного значения самому характеру повреждений ДНК (а также белков). Речь в ней идет о накоплении случайных повреждений и ошибок, природа которых часто даже не обсуждается, которые, стохастически накапливаясь, в общем снижают жизненные возможности клетки. Такое накопление повреждений может, согласно этой точке зрения, приводить к старению как вызывая апоптозы стареющих клеток, так и нарушая нормальные функции клеток (Best, 2009). По некоторым оценкам, в клетках мышей, например, происходит от 1500 до 7000 повреждений в час или от 36 до 160 тыс. повреждений в сутки, и некоторая часть поврежденной ДНК остается нерепарированной (Vilenchik, Knudson, 2000). Особенно активно накапливаются повреждения в ДНК редко делящихся и совсем не делящихся клеток, таких как мышечные клетки, клетки печени, а также нейроны мозга, что продемонстрировано на клетках мышей (Wolf et al., 2005). То же показано и на клетках человека (Mecocci et al., 1999).

Собственно, частным случаем репарационной теории старения является окислительная теория, которой в настоящем обзоре уделено центральное внимание.

Косвенным подтверждением того, что причиной старения не может быть недостаток репарации поврежденной ДНК, служат разнообразные заболевания, в основе которых лежат именно дефекты репарации ДНК, но которые не сопровождаются ускоренным старением. Один из ярких примеров таких болезней – пигментная ксеродерма (*xeroderma pigmentosum*), тяжелое и хорошо изученное к настоящему времени наследственное заболевание, обусловленное неспособностью клеток больных репарироваться после повреждений, вызываемых ультрафиолетовым облучением. Повышенная чувствительность таких больных к УФ-облучению, в том числе – к солнечным лучам, приводит к тяжелым ожогам кожи и глаз, к которым вскоре присоединяются злокачественные новообразования. При этом, несмотря на тяжелейшую недостаточность репарации ДНК, у таких больных нет никаких признаков преждевременного старения (Cleaver, 1968; Михельсон, 1979).

Теория соматических мутаций.

Одной из самых первых теорий о механизмах старения является теория соматических мутаций, предложенная американским физиком Лео Сциллардом (Szillard, 1959). Согласно этой теории старение – результат накопления разнообразных случайных мутаций в клетках и тканях организма. Мутации, в отличие от повреждений ДНК, не поддаются коррекции (репарации) и приводят к активации или инактивации генов, в т.ч. участвующих в регуляции клеточного цикла и в контроле размножения клеток. Мутационная теория старения не нашла серьезного экспериментального подтверждения. Так, показано, что по крайней мере у мышей не происходит сколько-нибудь значительного накопления мутаций в неделящихся нейронах головного мозга с возрастом (Dolle et al., 1997; 2006).

Нейроэндокринные теории старения.

Предположения о том, что старение организма, в первую очередь – человеческого, начинается со старения мозга, возникли давно, но в наши дни поддерживаются относительно небольшим числом специалистов, хотя продолжают существовать. Их авторы исходят из того, что мозг – центральный орган, формирующий личность человека, а особенности личности с возрастом существенно меняются, вплоть до старческого слабоумия (например, болезнь Альцгеймера).

Сам факт уменьшения с возрастом числа нейронов в мозгу не вызывает сомнений. Но болезни и дефекты самих нейронов, т.е. коры мозга, в действительности не ведут к старению. Лица, страдающие психическими заболеваниями, даже совершенно потерявшие способность к адекватному мышлению, стареют не быстрее психически здоровых людей. Шизофреники и лица, страдающие маниакально-депрессивным психозом, живут столь же долго, как и психически здоровые люди (Whalley et al., 2004).

Инсульт действительно является одной из болезней пожилого возраста, чаще всего приводящих к смерти (наряду с сердечной недостаточностью и раком), однако инсульт – результат поражения не нейронов, а клеток стенок сосудов мозга. Поражение нейронов здесь вторично и связано прекращением кровоснабжения. Собственно нейроны как раз очень резистентны к повреждениям, в частности, к ионизирующей радиации. Т.е. по существу мозг стареет в последнюю очередь.

Гораздо лучше обоснована более конкретная собственно нейроэндокринная теория, связывающая старение с функциями гипоталамуса, гипофиза и надпочечников (Cutler, 1978), а также всей нейроэндокринной системы организма. Согласно этой концепции, в основе старения лежит повышение порога чувствительности гипоталамуса к измерениям гомеостаза (Dilman, 1986). По мнению Дильмана старение не запрограммировано, а является побочным продуктом генетической программы развития, самого онтогенеза, и старение можно остановить или по крайней мере существенно замедлить,

стабилизируя гомеостаз на уровне, достигаемом к завершению развития организма (Dilman et al, 1994). Впрочем, на этом пути не удалось получить сколько-нибудь заметные результаты по замедлению старения.

Сиртуиновая теория старения.

Известно, что в клетках каждой ткани функционируют только те гены, которые экспрессируют белки, нужные для работы этой ткани. Остальные гены молчат. Их молчание обеспечивают специальные белки – сиртуины, или SIRT-белки (Silent Information Regulators). Химически это – гистоны-деацетилазы, обладающие также свойствами рибозилтрансферазы, которые экспрессируются генами *SIRT*.

В ходе старения (вызываемого все-таки укорочением теломер), а также при повреждении ДНК, может изменяться экспрессия генов. В результате этих эпигенетических изменений сиртуины могут отсоединяться от локусов молчащих генов и перемещаться к поврежденным участкам ДНК, где способствуют их репарации (в этом – вторая функция сиртуинов). Освободившиеся от сиртуинов молчащие гены перестают быть молчащими, и экспрессируемые ими не нужные в данной ткани белки нарушают нормальную работу ее клеток, и тем способствуют ускорению старения и дополнительно изменяют экспрессию генов, что в свою очередь способствует освобождению от сиртуинов новых ранее молчащих генов, и тем еще более ускоряют старение, и т.д. (Herskovits, Guarente, 2013).

Это разблокирование молчащих генов в результате отсоединения сиртуинов – не самостоятельный механизм старения, не причина его, а результат. Причиной же опять-таки является укорочение теломер, вызвавшее разблокирование молчащих генов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, в последние годы четко показано, что и окислительные и лучевые повреждения укорачивают теломеры. Однако этот факт не означает возможности примирения и объединения окислительной и теломерной теорий старения в некую единую теорию.

Дело в том, что если бы совсем не было окислительных повреждений, теломеры все равно укорачивались бы при каждом митозе, потому что так устроен механизм репликации ДНК (Olovnikov, 1973), и старение все равно прогрессировало бы, что мы и наблюдаем при действии любых антиоксидантов. А вот если теломеры не укорачиваются, что имеет место в трансформированных клетках, потому что там работает теломераза, то старение действительно останавливается, и трансформированные клетки не стареют, что мы также наблюдаем, несмотря на повреждающее действие АФК, часто даже более интенсивное, чем в здоровых клетках (Гамалей и др., 2001; Gamaley et al., 2006). Вышеизложенное заставляет считать, что механизмом старения, как естественного, так и лучевого, является именно и только укорочение теломер (по крайней мере, для позвоночных), а окислительные повреждения, ионизирующая радиация, наряду с некоторыми другими воздействиями, могут это укорочение теломер ускорять. Этим можно объяснить все без исключения результаты, демонстрирующие как определенное ускорение старения под действием активных форм кислорода, так и его некоторое замедление под действием антиоксидантов.

ПРИЛОЖЕНИЕ: БОЛЕЗНИ НАСЛЕДСТВЕННОГО ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ (ПРОГЕРИИ) КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ПОНИМАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ЕСТЕСТВЕННОГО СТАРЕНИЯ

Выше (стр.11-12) мы упоминали о роли, которую играют исследования на клетках больных прогериями в выяснении механизмов естественного старения. В настоящее время к болезням преждевременного старения с полной определенностью относят лишь три, к счастью, очень редких, заболевания человека: синдром Хатчинсона-Гилфорда (СХГ) – прогерия детей, синдром Вернера (СВ) – прогерия взрослых и синдром Луи-Бар – атаксия-телеангиэктазия (АТ). Некоторые авторы относят сюда еще несколько заболеваний, но именно перечисленные три можно уверенно назвать истинными болезнями преждевременного старения.

Синдром Хатчинсона-Гилфорда, СХГ (Hutchinson-Gilford syndrome, OMIM:176670) или прогерия детей является самой редкой и самой тяжелой из прогерий, встречается с частотой 1 на 5-8 миллионов новорожденных. Болезнь проявляется симптомами, характерными и для естественного старения, но начинающимися развиваться вскоре после рождения: резкой задержкой роста, тяжелыми распространенными атеросклеротическими изменениями сердца и сосудов, снижением плотности костей, возрастными изменениями в других органах, атрофией мышц, потерей подкожного жира, истончением и морщинистостью кожи, пресбиопией, поседением и ранней потерей волос. Обычно ребенок при рождении выглядит здоровым, но уже к концу первого года жизни резко замедляется рост и проявляются быстро нарастающие симптомы старения. Больные редко доживают до 15 лет, обычно умирая от сердечной недостаточности, инфаркта или инсульта.

В основе заболевания лежит мутация в гене *LMNA* в локусе q22 хромосомы 1, который кодирует ламин А – белок, входящий в состав оболочки клеточного ядра. Первоначально СХГ считали аутосомно-рецессивным

наследственным заболеванием (см., например, обзор: Михельсон, 1996), но позже было обнаружено (Eriksson et al., 2003), что это заболевание, скорее всего, не является наследственным, и большая часть (до 90%) случаев СХГ – результат мутации *de novo* на ранних этапах эмбриогенеза, приводящей к замене С на Т в положении 1824 в экзоне 11 гена *LMNA* (Zhang et al., 2011).

В норме ген *LMNA* управляет образованием ламинов А и С, формируя большой белковый компонент в 20 нм, называемый ядерной ламиной, расположенный с внутренней стороны внутренней ядерной мембраны в большинстве дифференцированных клеток (Worman, 2005). Ламин А взаимодействует не только непосредственно с хромосомами, но также со многими структурными и сигнальными белками, включая компоненты ядра и белки, связывающие нуклеоплазму с цитоплазматическим цитоскелетом. Ламин А, по-видимому, играет фундаментальную роль в поддержании целостности и формы упаковки ядра и ядерных поровых комплексов, общей регуляции транскрипции, репликации и репарации ДНК, контроле клеточного цикла, клеточной дифференцировке и организации хроматина (Shumaker et al., 2006; Dechat et al., 2008; 2009).

Ламин А синтезируется из белка, называемого преламином А, который состоит из 664 аминокислотных остатков и для превращения в зрелый ламин А проходит ряд посттрансляционных модификаций. Эти этапы включают (Eriksson et al., 2003) фарнезилирование цистеина в С-терминальный СааХ-мотив с помощью фарнезилтрансферазы, которая добавляет к тиольной группе цистеина липид С15-фарнезил; протеолитическое расщепление ааХ-конца цинк-металлопротеазой ZMPSTE24 (называемой также FACE1) при участии другой мембранной эндопротеазы Rse1; метилирование фарнезилцистеина изокарбоксиметилтрансферазой эндоплазматического ретикулума, и дополнительное расщепление 15 С-концевых остатков аминокислот (647-661), которые вырезаются вместе с метилированным фарнезилцистеином металлопротеазой ZMPSTE24. Оставшаяся часть – зрелый ламин А – не фарнезилирован.

Обычно мутация *LMNA* возникает в кодоне 608 и не меняет последовательности аминокислот, т.е. является «молчащей», но активирует сайт сплайсинга, что приводит к образованию мутантного преламина А с внутренней делецией. Этот транскрипт транслируется затем в мутантный белок ламин А, называемый **прогерин**ом, в котором, в отличие от зрелого ламина А, не хватает 50 остатков аминокислот (607-656) на его карбоксильном конце, но сохраняется С-концевой СaaX-мотив (Eriksson et al., 2003). Поскольку второй сайт эндопротеолитического расщепления белка, узнаваемый ZMPSTE24, лежит как раз в этом выпавшем при сплайсинге участке прогерина, преламин А не может достигнуть полного созревания в зрелый ламин А и постоянно сохраняет фарнезилированный С-конец. Т.о. прогерин накапливается в нуклеоплазме клеток больных СХГ. При этом зрелый ламин А также продолжает синтезироваться в клетках больных СХГ (Corpedè, 2012).

У нескольких больных с типичными проявлениями СХГ найдены другие мутации в экзоне 11 *LMNA*, а в некоторых нетипичных случаях – мутации в экзонах 2, 8 и 9 *LMNA* (Cao et al., 2003). Однако, типичный фенотип СХГ с сердечно-сосудистыми патологиями по-видимому вызывается мутацией в экзоне 11 *LMNA*. К тому же длина выпадающего аминокислотного участка отражается на тяжести течения СХГ: выпадение 50 аминокислотных остатков ведет к более тяжелой патологии, чем выпадение 35 аминокислотных остатков, и в последнем случае продолжительность жизни больных существенно выше (Fukuchi et al., 2004).

По сравнению с клетками здоровых доноров, клетки больных СХГ имеют резко укороченный лимит Хейфлика как *in vitro*, так, по всей видимости, и *in vivo*. Структурная целостность внутренней ядерной мембраны в клетках СХГ, по-видимому, нарушена; морфологически ядерная ламина утолщена, отмечается уменьшение периферического гетерохроматина, неправильная локализация ядерных белков (Zhang et al., 2011), смещение транспортных каналов и пор в ядерной мембране (Goldman et al., 2004).

Клетки больных СХГ обладают пониженной способностью поддерживать целостность генома, неспособны эффективно репарировать свою ДНК, повреждения в которой накапливаются и препятствуют генной экспрессии. В фибробластах больных СХГ обнаруживаются многочисленные нарушения в модификации гистонов и общие нарушения экспрессии генов: показано, что нарушен уровень экспрессии 361 гена. Обнаружена повышенная чувствительность клеток больных СХГ к ДНК-повреждающим воздействиям, в т.ч. к ионизирующей радиации (Liu et al., 2005). Описаны также многочисленные особенности в организации хроматина в клетках этих больных, где отмечается потеря периферического гетерохроматина, сопровождаемая возрастанием доли конститутивного и снижением – доли факультативного гетерохроматина (Constantinescu et al., 2010). Перераспределение гетерохроматина может препятствовать репарации ДНК и повышать нестабильность генома. Обнаружены особенности экспрессии иРНК в клетках больных СХГ, в первую очередь связанные с генами, ответственными за синтез ДНК, репарацию ДНК, клеточный цикл, окисление жирных кислот, внеклеточный матрикс и процессинг хромосом (Merideth et al., 2008; Dechat et al., 2008). Недавние исследования культивируемых фибробластов больных СХГ (Wang et al., 2012) выявили нарушения экспрессии до 30 белков из пяти групп: белки цитоскелета, белки, участвующие в регуляции апоптоза, в метилировании, в связывании ионов кальция. В этих клетках также оказался подавленным транспорт белков из цитоплазмы в ядро (Busch et al., 2009).

Экспрессия прогерина (мутантного ламина А) вызывает многочисленные митотические нарушения, включая задержку цитокинеза, неправильную сегрегацию хромосом и появление двуядерных клеток (Bush et al., 2009; Rodriguez et al., 2009; Cao et al., 2007; Deshat et al., 2007; Mehta et al., 2011). Фаза G₁ клеточного цикла при СХГ растянута (Wang et al., 2012). Расположение хромосом в интерфазных ядрах пролиферирующих фибробластов при СХГ отличается от клеток здоровых доноров, напоминая таковое в контрольных

покоящихся фибробластах с расположением более мелких хромосом ближе к центру ядра, а более крупных - на периферии (Mehta et al., 2011).

Т.о., при СХГ имеет место нарушение многочисленных фундаментальных функций клетки, включающих организацию гетерохроматина, прохождение митоза, репликацию ДНК, транскрипцию и репарацию. Генетические нарушения, как и ошибки белкового процессинга при СХГ, сейчас хорошо изучены, но механизм, с помощью которого мутация в гене *LMNA* приводит к наблюдаемым клеточным дефектам, пока не до конца понятен. Предполагается, что критическими для этих нарушений являются изменения в структуре и функциях ядерной ламина (Zhang et al., 2011). Нарушения ядерной ламина могут приводить к клеточным изменениям благодаря смещению в цитоплазму белка нуклеопорина (TPR), формирующего специальное образование на ядерной стороне порового комплекса, и к неправильному слиянию промежуточных белковых филаментов, ограничивая внутреннюю ядерную обложку (Wang et al., 2012), либо к неправильному взаимодействию с другими ядерными белками, нарушая структуру хроматина (Kelley et al., 2011).

Очевидно, что главный механизм СХГ – не в изменениях в зрелом ламине А, а в присутствии прогерина – мутантного ламина А, являющегося основным повреждающим фактором при СХГ. Уровень прогерина в первичных кожных фибробластах больных СХГ в 160 раз выше, чем в клетках здоровых лиц, тогда как уровень зрелого ламина А в них одинаков (Rodriguez et al., 2009). Показано, что и в присутствии ламина А дикого типа прогерин вызывает типичные для СХГ изменения морфологии клеточного ядра, чем подтверждается, что прогерин проявляет доминантный эффект. Уровень экспрессии прогерина в клетках больных СХГ может служить, по-видимому, важнейшим показателем тяжести заболевания (Moulson et al., 2007).

Тем не менее, точная роль прогерина в этиологии СХГ остается спорной. Наличие в молекуле прогерина фарнезильной группы при отсутствии каких-либо изменений в аминокислотной последовательности рассматривается в качестве главного момента в патогенезе СХГ (Yang et al., 2010). Накопление

преламина А при сохранении фарнезилирования на периферии ядра, ограничивая возможность соединения гидрофобной фенильной группы с ядерным окружением, может увеличить липофильность мембраны (Goldman et al., 2004; Gordon et al., 2007; Kieran et al., 2007; Wang et al., 2012).

Ряд авторов предлагают некоторые биохимические пути воздействия на молекулу прогерина в поисках подходов к лечению СХГ: использование ингибиторов фарнезил-трансферазы для блокирования присоединения фарнезила (Yang et al., 2008); предотвращение рокового для клетки сплайсинга, что снизило бы уровень прогерина (Osorio et al., 2011); использование рапамицина, который предположительно способствует элиминации прогерина (Cao et al., 2011; Mendelsohn, Larrich, 2011).

Как уже упоминалось, наиболее частыми причинами смерти больных СХГ служат атеросклеротические изменения, однако каким образом мутации в *LMNA* приводят к атеросклерозу и другим сердечно-сосудистым нарушениям, остается неясным. О прямой или непрямой связи сердечно-сосудистых проявлений при СХГ с экспрессией прогерина может свидетельствовать расположение прогерина в клетке: согласно результатам исследования биопсий, прогерин обычно накапливается в гладких мышечных волокнах сосудистой стенки, в эндотелиальных клетках, фибробластах кожи и кератиноцитах; он располагается во всех слоях стенки коронарных артерий, включая атеросклеротические бляшки в интиме сосудов и в фибробластах соединительной ткани (Olive et al., 2010). Самый высокий уровень прогерина был найден в полученных от больных СХГ стволовых клетках (Zhang et al., 2011), что может свидетельствовать о ткане-специфических нарушениях при СХГ.

При СХГ повышенное содержание прогерина в тканях сопровождается специфическими нарушениями развития, затрагивающими клетки мезодермы и мезенхимы. В гладких мышечных волокнах сосудов и стволовых клетках мезенхимы, которые обычно рассматриваются как поддерживающие циркуляцию крови, обнаружены нарушения дифференцировки и повышенная

чувствительность к механическим повреждениям *in vitro* и *in vivo*. При вскрытиях умерших от СХГ, в особенности детей, отмечалась потеря гладких мышечных волокон в стенках крупных и средних артерий (Zhang et al., 2011). Важную роль в патогенезе раннего атеросклероза при СХГ могут играть апоптозы, старение гладких мышечных волокон сосудов и уменьшение количества стволовых клеток мезенхимы. Такие нарушения в соединительной ткани, как ненормально большая толщина внеклеточного матрикса стенок сосудов, включая адвентициальный фиброз, также характерны для атеросклеротических патологий при СХГ. Видимо, изменения внеклеточного матрикса можно рассматривать как важнейший компонент патогенеза СХГ. При этом резко изменена экспрессия ряда генов, принимающих участие в построении и сохранении внеклеточного матрикса, включая коллагены, протеогликаны и металлопротеазы (Ly et al., 2000; Csoka et al., 2004). Снижение уровня металлопротеазы-3 коррелирует с тяжестью течения заболевания, и низкий уровень металлопротеаз предполагает нарушение баланса при remodelировании соединительной ткани больных СХГ (Harten et al., 2011).

В какой мере понимание особенностей патогенеза прогерий может помочь разобраться в механизмах естественного старения? Самая интересная в этом отношении сторона исследования прогерий – в том, что СХГ как форма преждевременного старения может представлять общий механизм старческих сердечно-сосудистых заболеваний. Клинически бóльшая часть проявлений СХГ сходны с нормальным старением, включая алопецию, потерю подкожного жира и прогрессирующий атеросклероз. Наблюдаемые патологические изменения также сходны. Ряд исследований показывают, что прогерин в небольших количествах присутствует в клетках и тканях и при естественном старении, и его содержание нарастает как при пассировании клеток *in vitro*, так и с возрастом *in vivo* (Scaffidi, Misteli, 2006; Cao et al., 2007; McClintock et al., 2007; Rodriguez et al., 2009). Обнаружено, что прогерин-позитивные клетки встречаются и в стенках сосудов здоровых лиц, и что уровень прогерина в коронарных артериях возрастает в среднем на 3.3% в год в возрасте от 1 месяца

до 97 лет. (Olive et al., 2010). Ранее было показано, что экспрессирующие прогерин клетки в здоровой коже образуют субпопуляцию кожных фибробластов и терминально дифференцированных кератиноцитов (McClintock, 2007). Более того, нормальные физиологически стареющие клетки, экспрессирующие в ограниченном количестве прогерин, фенотипически напоминают клетки больных СХГ *in vivo*, или клетки, прошедшие большое количество пересевов *in vitro* (Rodriguez et al., 2009). Всё это позволяет считать, что экспрессия прогерина и клеточное старение тесно связаны и скорее всего имеют общие цитологические и молекулярные механизмы.

С другой стороны, обнаружена отчетливая обратная корреляция между транскрипцией прогерина и иммортализацией некоторых клеточных линий, т.е. образование прогерина может быть элементом процесса физиологического старения (Сао et al., 2011). Такого рода ядерные нарушения могут быть обратимы с помощью подавления сайта сплайсинга (см. стр. 30). Было показано, что изменение скорости сплайсинга ламина А и прогерина является ключевым фактором в ограничении продолжительности жизни мышей, так что гетерозиготные мыши с молчащей мутацией живут дольше, чем гомозиготные, хотя и меньше, чем мыши дикого типа.

Итак, между больными СХГ и естественно старящимися людьми существует множество совпадающих проявлений и патологических изменений. Такая согласованность заставляет думать, что прогерин играет одну из главных ролей в физиологическом клеточном старении, хотя пока причинные связи между накоплением прогерина и физиологическим старением остаются не вполне понятными.

Накопление прогерина, наблюдаемое в ядерной ламине клеток при СХГ, может играть существенную роль и при патофизиологических изменениях, имеющих место при естественном клеточном старении. Сообщалось, что клетки больных СХГ показывают изменения в модификации гистонов (Shumaker et al., 2006) и повышенную повреждаемость ДНК, подобные процессам, имеющим место при естественном старении (Csoka et al., 2004;

Scaffidi et al., 2006). Особенно важные свидетельства, связывающие прогерин с естественным старением, дают данные о взаимоотношениях прогерина с теломерами: еще в прошлом веке было обнаружено резкое укорочение теломер в фибробластах больных СХГ (см. стр. 11-12); в фибробластах, характеризующихся сверхэкспрессией мутантного ламина А, наблюдается ускоренное укорочение теломер и резко ограниченный лимит Хейфлика *in vitro* (Bridger, Kill, 2004; Huang et al., 2008). О тесной связи между выработкой прогерина клетками и повреждениями теломер свидетельствует и то, что экспрессирующие прогерин фибробласты лиц, не страдающих СХГ, имеют более короткие теломеры, показывают более высокую активность ассоциируемой со старением β -галактозидазы; и с другой стороны, в иммортализованных раковых клетках, экспрессирующих теломеразу, экспрессия прогерина отсутствует (Benson et al., 2010). Это подкрепляет вывод о том, что между продукцией прогерина и экспрессией теломеразы существует обратная корреляция (Cao et al., 2011).

В то же время ряд авторов обращают внимание на различия между старением при СХГ и естественным старением. Подчеркивается, что при СХГ ускоряются и усиливаются не все признаки, характерные для естественного старения, что такие проявления старения, как катаракта, диабет, рак, нервная дегенерация, иммунные расстройства, менее характерны для СХГ (Merideth et al., 2008; Gordon et al., 2007). Такие факторы риска, как гиперхолестеринемия и ранняя гипертензия не типичны для больных СХГ (Olive et al., 2010). Некоторые характеристики клеток больных СХГ, включая скорость пролиферации и реакцию на воспаление, сильно отличаются от таковых при естественном старении в пожилом возрасте (Csoka et al., 2004). Экспрессия факторов транскрипции при СХГ, в особенности связанных с развитием и дифференцировкой мезенхимных клеток, проходит иначе, чем в нормально стареющих клетках, да и уровень прогерина в клетках СХГ повышен в 150-160 раз, тогда как при естественном старении – лишь примерно вдвое по сравнению с молодыми клетками (Kodriguez et al., 2009). Здесь следует учитывать во-

первых те же аргументы, которые мы приводили в защиту самой концепции теломерной теории старения (см. стр.17-28). Кроме того, различия между нормальным и преждевременным старением вполне естественны, т.к. преждевременное старение – тяжелая патология, поражающая почти исключительно маленьких детей, организм которых резко отличается от организма людей, постепенно стареющих с возрастом. Все без исключения отличия СХГ от нормального старения, перечисленные здесь, можно объяснить только этим: катаракта, диабет и рак просто не успевают развиваться у детей за их короткую жизнь, другие отличия в деталях старения также легко объясняются особенностями течения СХГ, при котором ускоренное старение накладывается на стремление молодого организма выполнить положенные в данном возрасте процессы развития.

Синдром Вернера, СВ (Werner syndrome, OMIM 272700) или прогерия взрослых встречается с частотой 1 на 100 000 новорожденных (Hasty et al., 2003), а в Японии – 1 на 20-40 000. Болезнь проявляется симптомами, характерными и для естественного старения, но начинающимися проявляться, как правило, в период полового созревания – на 15-20-м году жизни. Первые признаки заболевания – поседение, а впоследствии выпадение волос, склеродермо-подобные кожные изменения и отставание в росте, к которым к 25-30 годам присоединяется прогрессирующий атеросклероз, двусторонняя катаракта, диабет II типа, гипогонадизм, язвенные поражения кожи, остеосклероз и остеопороз, плоскостопье. Обычные причины смерти больных – инфаркт миокарда и злокачественные опухоли – саркомы и раки (Nakura et al., 1994; Muftuoglu et al., 2008). Средняя продолжительность жизни – 54 года (Epstein et al., 1996).

Генетической основой СВ служит мутация в гене *WRN* в локусе p12 хромосомы 8 (Goto et al., 1996), приводящая к экспрессии укороченного и не работающего варианта белка *WRN*. В норме белок *WRN* является 3'-5' геликазой и в то же время обладает экзонуклеазной активностью. Он активен

на расплетенной ДНК и является обязательным для репарации и репликации ДНК (Gray et al., 1997), а также работает на теломерной ДНК (Opresko et al., 2003). Идентифицирован комплекс, получивший название шелтерин, из 6 связанных с теломерами белков (см. стр.10), необходимых для формирования t-петли, защищающей концы теломер от слияния друг с другом. Белок WRN также необходим для нормальной работы шелтерина, взаимодействуя с TRF2 и POT1 в теломерном комплексе, регулируя процессинг в S-фазе.

Мутация в WRN снижает стабильность транскрибируемой информационной РНК, что увеличивает скорость ее деградации. При недостатке иРНК транслируется дефектный белок. Мутации могут привести и к укорочению белка WRN, ведущему к потере сигнальной последовательности, обеспечивающей его локализацию в ядре, в результате он вообще может не попасть в ядро, где должен взаимодействовать с ДНК. Это приводит к невозможности полноценной репарации ДНК (Huang et al., 2006). К тому же мутантный WRN легче деградирует, чем нормальный. Кроме того, из-за недостаточной репарации ДНК снижается возможность для белка WRN полноценно взаимодействовать с белком p53, что мешает прохождению p53-зависимого апоптоза неправильно синтезированных белков и сохраняет живыми мутантные клетки (Spillare et al., 1999).

Еще полвека назад было обнаружено, что клетки больных СВ (как уже упоминалось на стр.11-12) демонстрируют *in vitro* и *in vivo* ограниченный лимит Хейфлика (Martin et al., 1970), повышенную частоту хромосомных разрывов (Salk et al., 1981) и делеций (Fukuchi et al., 1989). В фибробластах и лимфоцитах больных СВ показано ускоренное укорочение теломер (Shulz et al., 1996; Crabbe et al., 2004)

Между тем сама постановка клинического диагноза СВ до сих пор не имеет достаточно четких критериев. Описано довольно много случаев заболеваний, сопровождающихся признаками, напоминающими раннее старение, которые клиницисты склонны называть синдромом Вернера. Гото и соавторы (Goto et al., 1997) полагают, что для уверенной диагностики этого

заболевания необходимо должны присутствовать по крайней мере три из пяти предложенных ими критериев: свидетельство наследственной передачи болезни, характерные изменения внешности больного, отчетливые проявления преждевременного старения (облысение, ранняя морщинистость кожи, отставание в росте), склеродермо-подобные изменения кожи и эндокринные нарушения. Можно предполагать, что под названием «Синдром Вернера» в геронтологической литературе могут скрываться самые разные заболевания (Ковина и др., 2002; Смирнова и др., 2008; Friedrich et al., 2010).

Атаксия-телеангиэктазия, АТ (Louis-Bar syndrome, OMIM 208900) – наиболее часто встречающаяся болезнь преждевременного старения. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу и встречается с частотой 1 на 40 000 новорожденных, почти одинаковой для всех регионов (Shiloh, Kastan, 2001), однако, в отличие от других болезней преждевременного старения, при гетерозиготном носительстве гена *AT* проявляются слабовыраженные, стертые проявления заболевания (Prodosmo, 2013).

АТ вызывается мутацией в гене *ATM*, локализованном в хромосоме 11 (11q22.3) и включающем 66 экзонов, занимающих 150 kb геномной ДНК (Gatti et al., 1988). Ген кодирует Р13 протеинкиназу – белок, участвующий в репарации ДНК при различных повреждениях. Протеинкиназа автофосфорилируется и тем самым активируется в ответ на возникновение в хроматине конформационных изменений, в т.ч. при возникновении в ДНК двойных разрывов нити, стимулируя ликвидацию разрывов (Shiloh, 2003; Lavin, Shiloh, 2008). При этом АТМ запускает одну из самых широких сигнальных сетей в клетке, которая реагирует на конкретные раздражители и так или иначе модифицирует разнообразные мишени, вовлеченные в поддержание гомеостаза в клетке (Shiloh, Ziv, 2013).

Этот фермент участвует также в регуляции транспорта синаптических пузырьков в нервных и нервно-мышечных синапсах и вовлечен в процесс цитоплазматической локализации деацетилазы-4 гистонов, локализованной как

в ядрах, так и в цитоплазме клеток в скелетных мышцах, сердце и головном мозге (Herrup, 2013).

Основа патогенеза заболевания – первичный иммунодефицит с прогрессирующей церебральной нейродегенерацией. У больных развивается атрофия коры мозжечка, дегенерация зубчатого ядра и нижней оливы головного мозга, атрофия продолговатого мозга, демиелинизация задних канатиков спинного мозга, нейроматоз и дегенерация нейронов спинного мозга.

Проявления АТ начинаются на первом году жизни с мозжечковой атаксии – нарушение координации и замедленность движений, шаткая походка, невозможность уверенно стоять и даже сидеть, которые постепенно прогрессируют и к 12-15 годам приводят к тяжелой инвалидности: больные теряют способность передвигаться без опоры, а затем и вообще передвигаться самостоятельно и вынуждены пользоваться инвалидными колясками. Из-за окуломоторной апраксии – нарушения координации движений глаз – больные не могут читать, нарушение моторных функций приводит к затруднениям при письме и даже к неспособности самостоятельно принимать пищу; присоединяется затрудненность речи. С возрастом моторные нарушения перестают прогрессировать и в ряде случаев могут даже несколько ослабевать (Crawford et al., 2000).

Другим центральным проявлением АТ является телеангиэктазия – появление расширенных выпуклых кровеносных сосудов на склере глаз, а также на коже лица в участках, подвергающихся солнечному облучению, в особенности под глазами и на ушных раковинах. С возрастом телеангиэктазы могут возникать также в толще нервной ткани головного мозга, в спинальных ганглиях, а в более редких случаях – в легких и в печени (Cabana et al., 1998).

У большей части больных АТ отмечают недоразвитие вилочковой железы, иммунные нарушения, чаще всего – низкие уровни большинства классов иммуноглобулинов - IgG, IgA, IgM и IgG, поэтому в ответ на инфекцию или вакцинацию не вырабатываются антитела, что приводит к недостаточному уровню лимфоцитов, особенно Т-лимфоцитов, в крови

больных при любой инфекции и к частым и тяжелым простудным заболеваниям (Nowak-Wegrzyn, 2004). С возрастом становится заметным некоторое интеллектуальное отставание.

Ускоренное старение при АТ проявляется ранним поседением волос, пятнами депигментации на коже (витилиго) и характерными для пожилого возраста кожными бородавками и гранулемами (Paller et al., 1991). Больные редко доживают до 40-летнего возраста.

Теломеры в клетках больных АТ существенно укорочены (Petrinelli et al., 2001; Qi et al., 2003), как и в клетках других прогерийных больных. Частота спонтанных хромосомных aberrаций резко повышена.

Больные АТ обладают повышенной чувствительностью к ионизирующей радиации, причем некоторая гиперчувствительность к радиации отмечается и у гетерозиготных носителей гена *ATM*. Гиперчувствительность клеток больных АТ к ионизирующей радиации во многом объясняется их неспособностью формировать в ответ на облучение блок клеточного цикла, дающий клеткам время для репарации поврежденной облучением ДНК (Barenfeld et al., 1998). В результате резко понижена способность клеток больных АТ ликвидировать вызванные радиацией разрывы ДНК. Если клетки здорового донора способны за 2,5 часа закрыть до 90% вызванных облучением разрывов нити ДНК, то клетки больных АТ – не более 30% (Полуботко и др., 2009).

Риск злокачественных новообразований для больных АТ резко повышен, до 25% больных рано или поздно заболевают той или иной формой злокачественных опухолей – карциномами, лимфомами или лейкомиями (Reiman et al., 2011). По другим данным, частота злокачественных новообразований при АТ увеличена в 61 раз для белого населения США и в 184 раза – для черного (Gatti et al., 1988). Для гетерозиготных носителей гена *ATM*, в особенности для женщин, риск злокачественных опухолей также повышен, но лишь вдвое по сравнению со средним уровнем в популяции (Thompson et al., 2005). В норме белок АТМ блокирует клеточный цикл в клетках с

хромосомными повреждениями, предотвращая тем самым злокачественное перерождение.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЕДУЩИЕ К НАРУШЕНИЮ ОБРАЗОВАНИЯ АФК И НЕ СВЯЗАННЫЕ СО СТАРЕНИЕМ ОРГАНИЗМА

Хроническая гранулематозная болезнь. Это наследственное заболевание (первичный иммунодефицит) обусловлено дефектом в системе образования супероксидного анион-радикала (ферментном комплексе NADPH-оксидазы) в нейтрофилах в ответ на стимуляцию их микроорганизмами. Такие нейтрофилы способны к фагоцитозу и хемотаксису, но не способны образовывать окислительный взрыв и убивать патогены, которые способны вырабатывать собственную каталазу (каталазоположительные – *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Aspergillus spp.*). В зависимости от выраженности дефекта различают 4 основных вида хронической гранулематозной болезни: полное отсутствие образования (X-сцепленная форма - 75% случаев), частичный дефицит, дефект структуры, ведущий к нарушению функции или регуляции образования НАДФН-оксидазы. Известны локализация и характер генных перестроек, лежащих в основе болезни, и клинические особенности вариантов.

В основе болезни лежит частичное или абсолютное нарушение работы фермента NADPH-оксидазы в нейтрофилах в результате мутаций его гена. Структура NADPH-оксидазы может быть генетически нарушена в любой ее субъединице, но в большинстве случаев мутирует ген мембранной субъединицы фермента gp91-phox, локализующийся на коротком плече X-хромосомы (Xp21.1). Это приводит к развитию X-сцепленного варианта заболевания с полным дефицитом NADPH-оксидазы. Болеют в основном мальчики, погибающие в юном или молодом возрасте (Bridges et al., 1959), хотя бывают исключения, когда отдельные индивидуумы с подобным недугом доживают до 69 лет (Schapiro et al., 1991). Надо заметить, что гомологи

NADPH оксидазы (члены семейства пох) в других клетках при хроническом гранулематозе работают нормально, поскольку кодируются другими генами.

Акаталазия (acatalasia; син.: акаталаземия, болезнь Такахары). При этом наследственном заболевании повышен уровень АФК в организме. Это аутосомно-рецессивная болезнь связана с мутацией гена каталазы и характеризуется отсутствием или низким уровнем каталазы (разлагающей пероксид водорода) в красных клетках крови и клетках других тканей людей (Crawford et al., 1988; Wen et al., 1988; Eaton, Ma, 1995). Повышенный уровень H_2O_2 при акаталазии вызывает заболевания десен (гингивит) и слизистой оболочки полости рта, что является причиной повышенной чувствительности к инфекциям, болезням периодонта, выпадению зубов. Прогноз при этом заболевании считается благоприятным, хотя в тяжелых случаях может развиваться диабет (Góth et al., 2004). Это заболевание распространено более всего в Японии и Корее, но встречается и в ряде европейских стран (Швеции, Швейцарии).

Болезнь акаталазия стимулировала ряд исследований *in vitro*, посвященных связи старения клеток и организма с пероксисомной гипокаталаземией (peroxisomal hypocatalasemia), поскольку фермент каталаза преимущественно локализован в пероксисомах и митохондриях (см. обзор: Terlecky et al., 2006). Пероксисомы (обязательные органеллы клеток эукариот) содержат большое количество ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции, в том числе окисление жирных кислот. Образующийся в этих реакциях H_2O_2 , как правило, сразу же разлагается на воду и кислород. Эта реакция катализируется каталазой, при отсутствии которой происходит накопление H_2O_2 . Существующий баланс между пероксисомными оксидантами и антиоксидантами с возрастом может нарушаться, а уровень каталазы в пероксисомах – уменьшаться (Perichon et al., 1998; Chao et al., 2002; Beier et al., 1993). У крыс и мышей падение уровня клеточной каталазы сопровождается подъемом уровня АФК, что коррелирует с сокращением длительности жизни. Уменьшение калорийности питания животных может

исправлять ситуацию и способствовать подъему уровня каталазы и увеличению продолжительности жизни (Rao et al., 1990; Terlecky et al., 2006).

Эксперименты *in vitro* показывают, что в культуре стареющих фибробластов (т.е. на поздних пассажах) продукция H_2O_2 тоже возрастает (Legakis et al., 2002), что приводит к изменению ряда клеточных компонентов и замедлению пролиферации. Показано, что инаktivация каталазы у крыс и мышей, а также у дрозофилы, ускоряет старение клеток (Chao et al., 2002; Griswold et al., 1993). Однако исследования пероксисомной гипокаталаземии *in vitro* пока не дают однозначного и окончательного ответа о прямой связи низкой каталазной активности и старения. Повышенное содержание H_2O_2 может привести к смертельному заболеванию, но не к старению (Terlecky et al., 2006). Подобные работы поднимают вопрос не столько о механизмах старения как такового, сколько о молекулярных механизмах болезней, связанных с возрастом. Кроме того, каталаза – не единственный пример фермента, теряющего активность по мере старения организма. Причины уменьшенной с возрастом активности ферментов и ключевых молекул митогенного сигнального каскада (МАР-киназного) нельзя объяснить исключительно как результат структурно-молекулярных повреждений (окислительных или каких-либо других) в соматических и нервных клетках. Огромная масса данных заставляет говорить о многофакторности процесса старения, в который обязательно вмешивается изменение экспрессии различных генов с установлением нового контроля за работой различных сигнальных белков (литературу см. в обзорах: Cristofalo et al., 2004; Buchholz et al., 2007).

ВЫВОДЫ

Известно, что максимальная продолжительность жизни человека ограничена и составляет порядка 100 лет, лишь очень редко и очень ненамного превышая этот лимит. Наиболее логичным кандидатом на роль регулятора, определяющего продолжительности жизни человека, является длина теломер хромосом. Приводятся объяснения того, каким образом укорочение теломер может быть причиной старения и ограничения продолжительности жизни. Показана неспособность окислительной теории старения объяснить множество бесспорных фактов, легко объясняемых в рамках теломерной теории, таких как неограниченная пролиферация злокачественных клеток, а также того, почему новорожденные дети начинают стареть каждый раз с нуля, а не с уровня, достигнутого клетками родителей к моменту зачатия. Постулируется, что даже если окислительные повреждения полностью отсутствуют, теломеры, тем не менее, укорачиваются с каждым митотическим циклом, потому что так устроен механизм репликации ДНК, и старение прогрессирует – именно это мы наблюдаем при действии любых антиоксидантов. Но если теломеры не укорачиваются, что имеет место в трансформированных клетках, где активна теломераза, старение останавливается и трансформированные клетки действительно не стареют, что мы также наблюдаем, несмотря на повреждающий эффект активных форм кислорода, даже более интенсивный, чем в нетрансформированных клетках. Как подтвердили работы группы фон Жглиницкого (1995-2013), активные формы кислорода лишь ускоряют старение, вызываемое укорочением теломер.

ЛИТЕРАТУРА

Андреев А.Ю., Кушнарева Ю.Е., Старков А.А. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях (обзор). *Биохимия* 2005, 70(2):246-264.

Воробцова И.Е., Семенов А.В., Комплексная цитогенетическая характеристика лиц, пострадавших при Чернобыльской аварии. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2006, 46: 140-151.

Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни. Москва. «Наука». 1987. 168 стр.

Гамалей И.А., Полозов Ю.С., Кирпичникова К.М., Дариева З.А., Пospelова Т.В. Клеточный цикл и проникновение активных форм кислорода в фибробласты грызунов. *Цитология* 2001; 43: 633-7.

Гамалей И.А., Аксенов Н.Д., Ефремова Т.Н., Кирпичникова К.М. Действие агентов, влияющих на внутриклеточный уровень активных форм кислорода на распределение фаз клеточного цикла линий 3t3 и 3t3SV40. *Цитология* 2003; 45: 26-33.

Ковина М.В., Хавинсон В.Х., Стрекалов Д.Л., Содовьева Д.В., Воробцова И.Е., Терехов С.М., Плескач Н.М., Прокофьева В.В., Спивак И.М., Тимонина Г.А., Михельсон В.М. Цитологические и молекулярные изменения при нетипичном случае ускоренного старения человека. *Цитология* 2002, 44(10):930-936.

Михельсон В.М. Дефекты репарации ДНК и хромосом при наследственных заболеваниях человека. В кн. *Успехи современной генетики* 1979: 51-83.

Михельсон В.М. Наследственное преждевременное старение человека. *Клиническая геронтология* 1996; 4:29-35.

Михельсон В.М., Гамалей И.А. Укорочение теломер – единственный механизм старения. *Радиационная биология. Радиоэкология* 2010, 50(3):269-275.

Оловников А.М. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов. *Докл.Акад.Наук СССР* 1971, 201(6):1496-1499.

Полуботко Е.А., Шатрова А.Н., Плескач Н.М., Михельсон В.М., Спивак И.М. Клеточный репаративный потенциал в семьях больных атаксией-телеангиэктазией. *Цитология* 2009, 51(12):978-985.

Смирнова Н.В., Спивак И.М., Плескач Н.М., Жеребцов С.В., Аксенов Н.Л., Михельсон В.М. Атипичный случай синдрома Вернера: нарушения

эпигенетической регуляции и ответа на повреждения РНК. *Цитология*, 2008, 41(5):868-877.

Смирнова Т.Ю., Рунов А.Л., Вонский М.С., Спивак Д.Л., Захарчук А.Г., Михельсон В.М., Спивак И.М. Длина теломер в группе долгожителей северо-западного региона России. *Цитология*, 2012, 54(5):439-445.

Alexeyev M.F. Is there more to aging than mitochondrial DNA and reactive oxygen species? *FEBS J.* 2009, 276(20):5768-5787.

Aebi H., Cantz M., Suter H. Cellular distribution of catalase activity in red cells of homozygous and heterozygous cases of acatalasia. *Experientia* 1965, 21(21):713-714.

Allen R.G., Balin A.K. Effects of oxygen on the antioxidant responses of normal and transformed cells. *Experimental Cell Research* 2003, 289(2):307-316.

Allsop R.C., Vaziri H., Patterson C., Goldstein S., Younglay E.V., Futcher A.B., Greider C.W., Harley C.B. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1992, 89(21): 10114-10118.

Antunes F., Han D., Cadenas E. Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxifications in vivo conditions. *Free Rad.Biol.Med.* 2002, 33(9):1260-1267.

Atala A. Regenerative medicine strategies. *J.Pediatr.Surg.* 2012, 47(1): 17-28
 Aviv A. Telomeres, sex, reactive oxygen species, and human cardiovascular aging. *Journal of Molecular Medicine* 2002, 80(11): 689-695.

Ayouaz A., Raynaud C., Heride C., Revaud D., Sabatier L. Telomeres: Hallmarks of radiosensitivity. *Biochimie* 2008, 90(1): 60-72.

Azadzo K.M., Radislavljevic Z.M., Golabek T., Yalla S.V., Siroky M.B. Oxidative modification of mitochondrial integrity and nerve fiber density in the ischemic overactive bladder. *J.Urol.* 2010, 183(1): 362-369.

Baker A.M., Oberley L.W., Cohen M.B. Expression of antioxidant enzymes in human prostatic adenocarcinoma. *Prostate* 1997, 32(4): 229-233.

Balin A.K., Pratt L., Allen R.G. Effects of ambient oxygen concentration on the growth and antioxidant defenses of human cell cultures established from fetal and postnatal skin. *Free Radical Biology and Medicine* 2002, 32(3): 257-267.

Barenfeld L.S., Nergadze S.G., Pleskach N.M., Prokofjeva V.V., Mikhelson V.M. Decreased number of simultaneously operating adjacent clusters of replicons in some human strains with and without X-irradiation. *Mutat. Res.* 1998, 408(3):219-226.

Beier K., Volkl A., Fahimi H.D. The impact of aging on enzyme proteins of rat liver peroxisomes: quantitative analysis by immunoblotting and immunoelectron microscopy. *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1993, 63(3):139-146.

Belloni P., Latini P., Palitti F. Radiation-induced bystander effect in healthy G(0) human lymphocytes: biological and clinical significance. *Mutat. Res.* 2011, 713(1-2): 32-38.

Benson E.K., Lee S.W., Aaronson S.A. Role of progerin-induced telomere dysfunction in HGPS premature cellular senescence. *J. Cell Sci.* 2010, 123(Pt. 15):2605-2612.

Best B.P. Nuclear DNA damage as a direct cause of aging. *Rejuvenation Res.* 2009, 12(3):199-208.

Biessmann H., Mason J.M. Telomerase-independent mechanisms of telomere elongation. *Cell Mol. Life Sci.* 2003, 60(11): 2325-2333.

Blackburn E.H. Switching and signaling at the telomere. *Cell* 2001, 110(6):661-673.

Blagosklonny M.V. Aging: ROS or TOR. *Cell Cycle* 2008, 7(21):3344-3354.

Blasko M.A. Mice with bad ends: mouse models for the study of telomeres and telomerase in cancer and aging. *EMBO* 2005, 24(6): 1095-1103.

Bodnar A.G., Ouellette M., Frolkis M., Holt S.E., Chiu C.P., Morin G.B., Harley C.B., Shay J.W., Liclisteiner S., Wright W.E. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998, 279(5349): 349-352.

Boveris A., Oshino N., Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem. J.* 1972, 128(3): 617-630.

Bridger J.M., Kill I.R. Aging of Hutchinson-Gilford progeria syndrome fibroblasts is characterised by hyperproliferation and increased apoptosis. *Exp. Gerontol.* 2004, 39(5):717-724.

Bridges R.A, Berendes H, Good R.A 1959. A fatal granulomatous disease of childhood; the clinical, pathological, and laboratory features of a new syndrome. *Am. J. Dis. Child.* 1959, 97 (4):387-408.

Buchholz J.N., Behringer E.J., Pottorf W.J., Pearce W.J., Vanterpool C.K. Age-dependent changes in Ca^{2+} homeostasis in peripheral neurons: implications for changes in function. *Aging Cell* 2007, 6(3):285-296.

Burdon RH, Alliangana D, Gill V. Hydrogen peroxide and the proliferation of BHK-21 cells. *Free Radical Research* 1995, 23(5): 471-486.

Busch A., Kiel T., Heupel W.M., Wehnert M., Hübner S. Nuclear protein import is reduced in cells expressing nuclear envelopathy-causing lamin A mutants. *Exp. Cell Res.* 2009, 315(14):2373-2385.

Cabana M.D., Crawford T.O., Winkelstein J.A., Christensen J.R., Lederman H.M. Consequences of the delayed diagnosis of ataxia-telangiectasia. *Pediatrics* 1998, 102(1):98-100.

Calle Y., Palomares T, Castro B, del Olmo M, Bilbao P, Alonso-Varona A. Tunicamycin treatment reduces intracellular glutathione levels: effect on the metastatic potential of the rhabdomyosarcoma cell line S4MH. *Chemotherapy* 2000, 46(6): 408-428.

Cao H., Hegele R.A. DNA polymorphisms of lipase related genes. *J. Hum. Genet.* 2003, 48(8):443-446.

Cao K., Capell B.C., Erdos M.R., Djabali K., Collins F.S. A lamin A protein isoform overexpressed in Hutchinson-Gilford progeria syndrome interferes with mitosis in progeria and normal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2007, 104(12):4949-4954.

Cleaver J.E. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature.* 1968, 218(5142):652-656.

Carrel A. Pure cultures of cells. *J. Exp. Med.* 1912, 16(2):165-168.

Carrel A. Contributions to the study of the mechanisms of the growth of connective tissue. *J. Exp. Med.* 1913, 18(3):287-298.

Carrel A. Present condition of a strain of connective tissue twenty-eight months old. *J. Exp. Med.* 1914, 20(1):1-2.

Castella M, Puerto S., Creus A, Marcos R, Surrallés J. Telomere length modulates human radiation sensitivity in vitro. *Toxicology Letters* 2007, 172(1-2): 29-36.

Chao C., Youssef J., Rezaiekhaleigh M., Birnbaum L.S., Badr M. Senescence-associated decline in hepatic peroxisomal activities corresponds with diminished levels of retinoid X receptor alpha, but not peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Mech. Ageing Dev.* 2002, 123(11):1469–1476.

Constantinescu D., Csoka A.B., Navara C.S., Schatten G.P. Defective DSB repair correlates with abnormal nuclear morphology and is improved with FTI treatment in Hutchinson-Gilford progeria syndrome fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 2010, 316(17):2747-2759.

Coppède F. Premature aging syndrome. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012, 724:317-

331.

Crabbe L., Verdun R.E., Haggbloom C.I., Karlseder J. Defective telomere lagging strand synthesis in cells lacking WRN helicase activity. *Science* 2004,306(5703):1951-1953.

Crawford T.O., Mandir A.S., Lefton-Greif M.A., Goodman S.N., Goodman B.K., Sengul H., Lederman H.M. Quantitative neurologic assessment of ataxia-telangiectasia. *Neurology* 2000, 54(7):1505-1509.

Crawford D.R., Mirault M.E., Moret R., Zbinden I., Cerutti P.A. Molecular defect in human acatalasia fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988;153:59-66.

Cristofalo V.J., Allen R.G., Pignolo R.J., Martin B.G., Beck J.C. Relationship between donor age and the replicative lifespan of human cells in culture: a reevaluation. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 1998, 95(18): 10614-10619.

Cristofalo V.J., Lorenzini A., Allen R.G., Torres C., Tresini M. Replicative senescence: a critical review. *Mechanisms of Ageing and Development* 2004, 125(10-11): 827-848.

Griswold C.M., Matthews A.L., Bewley K.E., Mahaffey J.W. Molecular characterization and rescue of acatalasemic mutants of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 1998, 134(3): 781-788.

Csoka A.B., English S.B., Simkevich C.P., Ginzinger D.G., Butte A.J., Schatten G.P., Rothman F.G., Sedivy J.M. Genome-scale expression profiling of Hutchinson-Gilford progeria syndrome reveals widespread transcriptional misregulation leading to mesodermal/mesenchymal defects and accelerated atherosclerosis. *Aging Cell*. 2004, 3(4):235-243.

Cutler R.G. Alterations with age in the informational storage and flow systems of the mammalian cell. *Birth.Defects Orig.Artic.Ser.* 1978, 14(1):463-498.

De Amicis A., Piane M., Ferran F., Fanciulli M., Delia D., Chessa L. Role of senataxin in DNA damage and telomeric stability. *DNA Repair (Amsterdam)* 2011, 10(2): 199-209.

Dechat T., Adam S.A., Goldman R.D. Nuclear lamins and chromatin: when structure meets function. *Adv. Enzyme Regul.* 2009,49(1):157-166

Dechat T., Pflieger K., Sengupta K., Shimi T., Shumaker D.K., Solimando L., Goldman R.D.. Nuclear lamins: major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin. *Genes Dev.* 2008, 22(7):832-853.

Dechat T., Shimi T., Adam S.A., Rusinol A.E., Andres D.A., Spielmann H.P., Sinensky M.S., Goldman R.D. Alterations in mitosis and cell cycle progression caused by a mutant lamin A known to accelerate human aging. *Proc Natl Acad. Sci. U S A.* 2007, 104(12):4955-4960.

De Lange T. Telomere-related genome instability in cancer. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2005, 70:197-204.

Dikalov S. Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. *Free Radic.Biol.Med.* 2011, 51(7):1289-1301.

Dilman V.M, Revskey S.Y., Golubev A.G. Neuroendocrine-ontogenetic mechanism of aging: toward an integrated theory of aging. *Int. Rev. Neurobiol.* 1986;28:89-156.

Dilman V.M. Aging, rate of aging and cancer. A search for preventive treatment. *Ann. NY Acad. Sci.* 1994, 719:454-455.

Dobzhansky Th., Genetics and the origin of species. NY,1937.

Dolle M.E.T., Busuttil R.A., Garcia A.M., Wijnhoven S., van Drunen E., Neidernhofer L.J., van der Horst G., Hoeijmakers J.H.J., van Steeg H., Vijg J. Increased genomic instability is not a prerequisite for shortened lifespan in DNA repair deficient mice. *Mutat.Res.* 2006, 596(1-2):22-35.

Dolle M.E.T., Giese H., Hopkins C.L., Martus H.J., Hausdorff J.M., Vijg J. Rapid accumulation of genome rearrangements in liver but not in brain of old mice. *Mutat.Res.* 1997, 17(4): 431-434.

Dreesen O., Chojnovski A., Ong P.F., Zhao T.Y., Common J.E., Lunny D., Lane E.B., Lee S.J., Vardy L.A., Stewart C.L., Colman A. Lamin B1 fluctuations have different effects on cellular proliferation and senescence. *J.Cell Biol.* 2013, 200(5): 605-617.

Eaton J.W., Ma M. Acatlasemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill; New York: 1995.:2371-2383.

Eichinger L., Pachebat J.A., Glöcker G., Rajandream M.A., et al. The genome of social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Nature* 2005, 435(7038): 43-57.

Eisenhauer K.M., Gerstein R.M., Chiu C.P., Conti M., Hsueh A.J. Telomerase activity in female and male rat germ cells undergoing meiosis and in early embryos. *Biology of Reproduction* 1997, 56(5):1120-1125.

Epel E.S., Blackburn E.H., Lin J., Dhabhar F.S., Adler N.E., Morrow J.D., Cawthon R.M. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 2004, 101(49):17312-17305.

Epstein C.J., Martin G.M., Schultz A.L., Motulsky A.G. Werner's syndrome. *Medicine* 1966,45(3):177-221.

Eriksson M., Brown W.T., Gordon L.B., Glynn M.W., Singer J., Scott L., Erdos M.R., Robbins C.M., Moses T.Y., Berglund P., Dutra A., Pak E., Durkin S., Csoka A.B., Boehnke M., Glover T.W., Collins F.S. Nature Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2003,423(6937):293-298.

Felder M., Szafanski K., Lehmann R., Eichinger L., Noegel A.A., Glöcker G. DictyMOLD-a *Dictyostelium discoideum* genome browser database. *Bioinformatics* 2005, 21(5):696-697.

Finch C.E. Longevity, senescence, and the genome. Chicago: Univ. of Chicago Press. 1990. 922 p.

Forsyth N.R., Evans A.P., Shay J.W., Wright W.E. Developmental differences in the immortalization of lung fibroblasts by telomerase. *Aging Cell*. 2003, 2(5):235-243.

Franceschi C., Mondello C., Bonafe N.I., Valensin S., Sansoni P., Sorbi S. Long telomeres and well preserved proliferative vigor in cells from centenarians: a contribution to longevity? *Aging (Milano)* 1999, 11(2): 69-72.

Frias C., Garcia-Aranda C., De Juan C., Morán A., Ortega P., Gómez A., Hernando F., López-Asenjo J.A., Benito M., Iniesta P. Telomere shortening is associated with poor prognosis and telomerase activity correlates with DNA repair impairment in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008, 60(3):416-425.

Friedrich K., Lee L., Leistritz D.F., Nürnberg G., Saha B., Hisama F.M., Eyman D.K., Lessel D., Nürnberg P., Li C., Garcia-F-Villalta M.J., Kets C.M., Schmidtke J., Cruz V.T., Van den Akker P.C., Boak J., Peter D., Compoginis G., Cefle K., Ozturk S., López N., Wessel T., Poot M., Ippel P.F., Groff-Kellermann B., Hoehn H., Martin G.M., Kubisch C., Oshima J. WRN mutations in Werner syndrome patients: genomic rearrangements, unusual intronic mutations and ethnic-specific alterations. *Hum Genet*. 2010,128(1):103-111.

Fujimori J., Matsuo T., Shimose S., Kubo T., Ishikawa M., Yasunaga I., Ochi M. Antitumor effects of telomerase inhibitor TMPyP4 in osteosarcoma cell lines. *Journal of Orthopedic Research* 2011, 29(11): 1707-1711.

Fukuchi K., Katsuya T., Sugimoto K., Kuremura M., Kim H.D., Li L., Ogiwara T. LMNA mutation in a 45 year old Japanese subject with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *J. Med. Genet.* 2004,41(5):e67.

Fukuchi K., Martin G.M., Monnat R.J. Jr. Mutator phenotype of Werner syndrome is characterized by extensive deletions. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A.* 1989, 86(15):5893-5897.

Gamaley I., Efremova T., Kirpichnikova K., Kever L, Komissarchik Y., Polozov Yu., Khaitlina S. N-acetylcysteine-induced changes in susceptibility of transformed eucariotic cells to bacterial invasion. *Cellular Biology International* 2006, 30: 319-325.

Gamaley I.A., Klyubin I.V. 1999. Roles of reactive oxygen species: signaling and regulation of cellular function. *International Review of Cytology.* 1999, 188: 203-255.

Gatti R.A., Berkel I., Boder E., Braedt G., Charmley P., Concannon P., Ersoy F., Foroud I., Jaspers N.G., Lange K. Localization of an ataxia-telangiectasia gene to chromosome 11q22-23. *Nature* 1988, 336(6199):577-580

Giles G.I. The redox regulation of thiol dependent signaling pathways in cancer. *Current Pharmacology of Diseases.* 2006, 12(34): 1-13.

Goldman R.D., Shumaker D.K., Erdos M.R., Eriksson M., Goldman A.E., Gordon L.B., Gruenbaum Y., Khuon S., Mendez M., Varga R., Collins F.S. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004,101(24):8963-8968.

Gordon L.B., McCarten K.M., Giobbie-Hurder A., Machan J.T., Campbell S.E., Berns S.D., Kieran M.W.. Disease progression in Hutchinson-Gilford progeria syndrome: impact on growth and development. *Pediatrics.* 2007,120(4):824-833.

Góth L., Rass P., Páy A. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnostics* 2004, 8(3): 141-149.

Goto M., Rubenstein M., Weber J., Woods K., Drayna D. Genetic linkage of Werner's syndrome to five markers on chromosome 8. *Nature* 1992, 355(6362):735-738.

Goytisolo F.A., Samper E., Edmonson S., Taccioli G.E., Blasko M.A. The absence of the DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in mice results in

anaphase bridges and in increased telomeric fusions with normal telomere length and G-strand overhang. *Molecular and Cell Biology* 2001, 21(11):3642-3651.

Gray M.D., Shen J.C., Kamath-Loeb A.S., Blank A., Sopher B.L., Martin G.M., Oshima J., Loeb L.A. The Werner syndrome protein is a DNA helicase. *Nat. Genet.* 1997, 17(1):100-103.

Greider C.W., Blackburn E.H. The telomere terminal transferase of *Tetrahymena* is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. *Cell* 1987, 51(6): 887-898.

Guinness Book of World Records. NY. Bentham Books, 2012.

Hao L.I., Armanios M., Strong M.A., Karim B., Feldser D.M., Huso D., Greider C.W. Short telomeres, even in the presence of telomerase, limit tissue renewal capacity. *Cell* 2005, 123(6): 1121-1131.

Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Gerontology* 1956, 11(3): 298-300.

Harman D. The biologic clock: the mitochondria? *J.Am.Geriatr.Soc.* 1972, 20(4):145-147.

Harten I.A., Zahr R.S., Lemire J.M., Machan J.T., Moses M.A., Doiron R.J., Curatolo A.S., Rothman F.G., Wight T.N., Toole B.P., Gordon L.B. Age-dependent loss of MMP-3 in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.* 2011, 66(11):1201-1207.

Hasty P., Campisi J., Hoeijmakers J., Van Steeg H., Vijg J. Aging and genome maintenance: lessons from the mouse. *Science* 2003, 299(5611):1355-1359.

Hayflick L., Moorhead P.C. The serial cultivation in human diploid cell strains. *Experimental Cell Research* 1961, 25(3): 585-621.

Hayflick L. How and why we age. *Experimental Gerontology* 1998, 33(7-8): 639-653.

Hemann M.T., Greider C.W.. Wild-derived inbred mouse strains have short telomeres. *Nucleic Acids Research* 2000, 28(22):4474-4478.

Herbig U., Ferreira M., Condell L., Carey D., Sedivy J.M. Cellular senescence in aging primates. *Science* 2006, 311(5765):1257-1258.

Herskovits A.Z., Guarente L. Sirtuin deacetylases in neurodegenerative diseases of aging. *Cell Res.* 2013, 23(6):746-758

Herrup K. ATM and the epigenetics of the neuronal genome. *Mech.Ageing Dev.* 2013 (in Press).

Hoare M., Das T., Alexander G. Ageing, telomeres, senescence, and liver injury. *Journal of Hepatology* 2010, 53(5): 950-961.

Hodara R., Weiss D., Joseph G., Velasquez-Castano J.C., Landázuri N., Han J.W., Yoon Y.S., Taylor W.R. Overexpression of catalase in myeloid cells causes impaired postischemic neovascularization. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2011, 31(10):2203-2209.

Hohensinner P.J., Goronzy J.J., Weyand C.M. Telomere Dysfunction, autoimmunity and aging. *Aging Dis.* 2011, 2(6):524-537.

Howes R.M. The free radical fantasy. *Ann.NY Acad. Sci.* 2006, 1067: 22-26.

Huang S., Lee L., Hanson N.B., Lenaerts C., Hoehn H., Poot M., Rubin C.D., Chen D.F., Yang C.C., Juch H., Dorn T., Spiegel R., Oral E.A., Abid M., Battisti C., Lucci-Cordisco E., Neri G., Steed E.H., Kidd A., Isley W., Showalter D., Vittone J.L., Konstantinow A., Ring J., Meyer P., Wenger S.L., von Herbay A., Wollina U., Schuelke M., Huizenga C.R., Leistritz D.F., Martin G.M., Mian I.S., Oshima J. The spectrum of WRN mutations in Werner syndrome patients. *Hum. Mutat.* 2006, 27(6):558-567.

Huang S., Risques R.A., Martin G.M., Rabinovitch P.S., Oshima J. Accelerated telomere shortening and replicative senescence in human fibroblasts overexpressing mutant and wild-type lamin A. *Exp Cell Res.* 2008,314(1):82-91.

Hwang C., Sinskey A.J., Lodish H.F. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science* 1992, 257(5976): 1496-1502.

Irani K., Goldschmidt-Clermont P.G. Ras, superoxide and signal transduction. *Biochemical Pharmacology* 1998, 55(9): 1339-1346.

Irani K., Xia Y., Zweier J.L., Sollott S.J., Der C.J., Fearon E.R., Sundaresan M., Finkel T., Goldschmidt-Clermont P.J. Mitogenic signaling mediated by oxidants in Ras-transformed fibroblasts. *Science* 1997, 275(5306): 1649-1652.

Jang Y.C., Remmen V.H. The mitochondrial theory of aging: insight from transgenic and knockout mouse models. *Exper.Gerontol.* 2009,44(4):256-260.

Kawagoshi T., Nishida C., Ota H., Kumazawa Y., Endo H., Matsuda Y. Molecular structures of centromeric heterochromatin and karyotypic evolution in the Siamese crocodile *Crocodylus siamensis* (Crocodylidae, Crocodylia). *Chromosome Research.* 2008, 16(8): 1119-32.

Kelley J.B., Datta S., Snow C.J., Chatterjee M., Ni L., Spencer A., Yang C.S., Cubeñas-Potts C., Matunis M.J., Paschal B.M. The defective nuclear lamina in Hutchinson-gilford progeria syndrome disrupts the nucleocytoplasmic Ran gradient and inhibits nuclear localization of Ubc9. *Mol. Cell Biol.* 2011, 31(16):3378-3395.

Khalyavkin A.V. The updated view concerning the possibility of growing old without senescence. *Rejuvenation Res.* 2010, 13(2-3): 319-321.

Khrapko K., Kraytsberg Y., de Grey A.D., Vijg J., Schon E.A. Does premature aging of the mtDNA mutant mouse prove that mtDNA mutations are involved in natural aging? *Aging Cell* 2006, 5(3):279-282.

Kieran M.W., Gordon L., Kleinman M. New approaches to progeria. *Pediatrics* 2007, 120(4):834-841.

Kim S., Sandler D.P., Carswell G., De Roo L.A., Parcs C.G., Cawthon R., Weinberg C.N., Taylor J.A. Telomere length in peripheral blood and breast cancer risk in a prospective case-cohort analysis: results from the sister study. *Cancer Causes Control* 2011, 22(7): 1061-1066.

Kishi S., Uchiyama J., Baughman A.M., Goto T., Lin M.C., Tsai S.B. The zebrafish as a vertebrate model of functional aging and very gradual senescence. *Exp. Gerontol.* 2003, 38(7):777-786.

Kujoth G.C., Hiona A., Pugh T.D., Someya S., Panzer K., Wohlgenmuth S.E., Hofer T., Seo A.Y., Sullivan R., Jobling W.A., Morrow J.D., Van Remmen H., Sedivy J.M., Yamasoba T., Tanokura M., Weindruch R., Leeuwenburgh C., Prolla T.A. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005, 309(5733):481-484.

Kusumoto-Matsuo R., Opresko P.L., Ramsden D., Tahara H., Bohr V.A. Cooperation of DNA-PKcs and WRN helicase in the maintenance of telomeric D-loops. *Aging (Albany NY)* 2010, 2(5):274-284.

Lavin M.F., Shiloh Y. The genetic defect in ataxiatelangiectasia. *Annual Rev.Immunol.* 1997, 15:177-202.

Legakis J.E., Koepke J.I., Jedszko C., Barlaskar F., Terlecky L.J., Edwards H.J., Walton .PA., Terlecky S.R. Peroxisome senescence in human fibroblasts. *Mol Biol Cell.* 2002, 13(12):4243–4255.

Li N., Oberley T. D. Modulation of antioxidant enzymes, reactive oxygen species, and glutathione levels in manganese superoxide dismutase-overexpressing NIH/3T3 fibroblasts during the cell cycle. *Journal of Cell Physiology* 1998, 177(1): 148-160.

Li N., Oberley T.D., Oberley L.W., Zhong W. Inhibition of cell growth: mechanistic studies. *Journal of Cell Physiology* 1998a, 175(1): 359-369.

Li N., Oberley T.D., Oberley L.W., Zhong W. Overexpression of manganese superoxide dismutase in DU145 human prostate carcinoma cells has multiple effects on cell phenotype. *Prostate* 1998b, 35(3): 221-233.

Liu B., Wang J., Chan K.M., Tjia W.M., Deng W., Guan X., Huang J.D., Li K.M., Chau P.Y., Chen D.J., Pei D., Pendas A.M., Cadiñanos J., López-Otín C., Tse H.F., Hutchison C., Chen J., Cao Y., Cheah K.S., Tryggvason K., Zhou Z. Genomic instability in laminopathy-based premature aging. *Nat Med.* 2005,11(7):780-785.

Lorenzini A., Johnson F.B., Oliver A., et al. Significant correlation of species longevity with DNA double strand break recognition but not with telomere length. *Mechanisms of Ageing and Development* 2009, 130(11-12):784-792.

Ly D.H., Lockhart D.J., Lerner R.A., Schultz P.G. Mitotic misregulation and human aging. *Science.* 2000, 287(5462):2486-2492.

Manning E.L., Crossland J., Dewey M.J., van Zant G. Influences of inbreeding and genetics on telomere length in mice. *Mammalian Genome* 2002, 13(5): 234-238.

Marcon F., Siniscalchi E., Crebelli R., Saieva C., Sera .F, Fortini P., Simonelli V., Palli D. Diet-related telomere shortening and chromosome stability. *Mutagenesis* 2012, 27(1):49-57.

Martindale J.L., Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol.* 2002, 192(1): 1-15.

Martin G.M., Sprague C.A., Epstein C.J. Replicative life-span of cultivated human cells. Effects of donor's age, tissue, and genotype. *Lab. Invest.* 1970, 23(1):86-92.

Martin-Ruiz C., Dickinson H.O., Keys B., Rowan E., Kenny R.A., von Zglinicki T. Telomere length predicts poststroke mortality, dementia, and cognitive decline. *Annals of Neurology* 2006, 60(2):174-180.

Maser R.S., DePinho R.A. Telomeres and the DNA damage response: why the fox is guarding the henhouse. *DNA repair (Amsterdam)* 2004, 3(8-9): 979-988.

Maxwell F., McGlynn L.M. Muir H.C., Talwar D., Benezeval M., Roxburgh C.S., McMillan D.C., Horgan P.G., Shiets P.G. Telomere attrition and decreased fetuin-a levels indicate accelerated biological aging and implicated in the pathogenesis of colorectal cancer. *Clinical Cancer Research* 2011, 17(17): 5573-5581.

McClintock D., Ratner D., Lokuge M., Owens D.M., Gordon L.B., Collins F.S., Djabali K. The mutant form of lamin A that causes Hutchinson-Gilford progeria is a biomarker of cellular aging in human skin. *PLoS One.* 2007, 2(12):e1269.

McCord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J.Biol.Chem.* 1969, 244(22):6049-6055.

Mecocci P., Fanó G., Fulle S., MacGarvey U., Shinobu L., Polidori M.C., Cherubini A., Vecchiet J., Senin U., Beal M.F. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med.* 1999, 26(3-4):303-308.

Mehta I.S., Eskiw C.H., Arican H.D., Kill I.R., Bridger J.M. Farnesyltransferase inhibitor treatment restores chromosome territory positions and active chromosome dynamics in Hutchinson-Gilford progeria syndrome cells. *Genome Biol.* 2011,12(8): R74.

Mendelsohn A.R, Larrick J.W. Rapamycin as an antiaging therapeutic?: targeting mammalian target of rapamycin to treat Hutchinson-Gilford progeria and neurodegenerative diseases. *Rejuvenation Res.* 2011,14(4):437-441.

Merideth M.A., Gordon L.B., Clauss S., Sachdev V., Smith A.C., Perry M.B., Brewer C.C., Zalewski C., Kim H.J., Solomon B., Brooks B.P., Gerber L.H., Turner M.L., Domingo D.L., Hart T.C., Graf J., Reynolds J.C., Gropman A., Yanovski J.A., Gerhard-Herman M., Collins F.S., Nabel E.G., Cannon R.O. 3rd, Gahl W.A., Introne W.J.. Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *New Engl. J. Med.* 2008 ,358(6):592-604.

Mikhelson V.M. Replicative mosaicism might explain the seeming contradictions in the telomere theory of aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 2001, 122(13): 1361-1365.

Mondello C., Petropoulou C., Monti D., Gonos E.S., Francheschi C., Nuzzo F. Telomere length in fibroblasts and blood cells from healthy centenarians. *Exp. Cell Res.* 1999, 248(1): 234-242.

Moulson C.L., Fong L.G., Gardner J.M., Farber E.A., Go G., Passariello A., Grange D.K., Young S.G., Miner J.H. Increased progerin expression associated with unusual LMNA mutations causes severe progeroid syndromes. *Human Mutat.* 2007, 28(9):882-889.

Muftuoglu M., Oshima J., von Kobbe C., Cheng W.H., Leistritz D.F., Bohr V.A. The clinical characteristics of Werner syndrome: molecular and biochemical diagnosis. *Hum Genet.* 2008, 124(4):369-377.

Muller F.L., Lustgarten M.S., Jang Y., Richardson A., Van Remmen H. Teends in oxidative aging theories. *Free Rad.Biol.Med.* 2007, 43(4):477-503.

Müller H. Further studies on the nature and causes of gene mutations. *Proc. Sixth Int. Congr. Genet.* 1932, 1: 213-255.

Nakura J., Wijsman E.M., Miki T., Kamino K., Yu C.E., Oshima J., Fukuchi K., Weber J.L., Piussan C., Melaragno M.I., Epstein C.J., Scappaticci S., Fraccaro M., Matsumura T., Murano S., Yoshida S., Fujiwara Y., Saida T., Ogihara T., Martin G.M., Schellenberg G.D. Homozygosity mapping of the Werner syndrome locus (WRN). *Genomics* 1994, 23(3):600-608.

Newman J.P, Banerjee B., Fang W, Poonepalli A, Balakrishnan L, Low G.K., Bhattacharjee R.N, Akira S., Jayapal M., Melendez A.J., Baskar R., Lee H.W., Hande M.P. Short dysfunctional telomeres impair the repair of arsenite-induced oxidative damage in mouse cells. *Journal of Cell Physiology* 2008, 214: 796-809.

Neumann A.A., Watson C.M., Noble J.R., Pickett H.A., Reddel R.R. Alternative lengthening of telomeres in normal mammalian somatic cells. *Genes Dev.* 2013, 27(1):18-23.

Njajou O.T., Cawthon R.M., Damcott C.M., Wu S.H., Ott S., Garant M.J., Blackburn E.H., Mitchell B.D., Shuldiner A.R., Hsueh W.C. Telomere length is paternally inherited and associated with parental lifespan. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 2007, 104(29): 12135-12139.

Nowak-Wergzyn A., Crawford T.O., Winkelstein J.A., Carson K.A., Lederman H.M. Immunodeficiency and infections in ataxia-telangiectasia. *J.Pediatr.* 2003, 144(4):505-511.

Ohali A., Avigad S., Ash S., Goshen Y., Luria D., Feinmesser M., Zaizov R., Yaniv I. Telomere length is prognostic factor in neuroblastoma. *Cancer* 2006, 107(6): 1391-1399.

Ogami M., Ikura Y., Ohsawa M., Matsuo T., Kayo S, Ioshimi M., Hai E., Naruko T., Ohishi M., Higuchi K., Arakawa T., Ueda M. Telomere shortening in human coronary artery diseases. *Atherosclerosis,Thrombocyts and Vascular Biology* 2004, 3(3): 546-550.

Okuda K., Khan M.I., Skurnick J., et al. Telomere attrition of the human abdominal aorta: relationships with age and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2000, 152(2): 391-398.

Olive M., Harten I., Mitchell R., Beers J.K., Djabali K., Cao K., Erdos M.R., Blair C., Funke B., Smoot L., Gerhard-Herman M., Machan J.T., Kutys R., Virmani R., Collins F.S., Wight T.N., Nabel E.G., Gordon L.B. Cardiovascular pathology in Hutchinson-Gilford progeria: correlation with the vascular pathology of aging.. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010,30(11):2301-2309.

Olovnikov A.M. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *Journal of Theoretical Biology* 1973, 41(1): 181-190.

Olovnikov A.M. Hypothesis: Lifespan is regulated by chromosome DNA of the hypothalamus. *Journal of Alzheimer Disease* 2007, 11(2): 241-252.

Opresko P.L., Cheng W.H., von Kobbe C., Harrigan J.A., Bohr V.A. Werner syndrome and the function of the Werner protein; what they can teach us about the molecular aging process. *Carcinogenesis* 2003, 24(5):791-802.

Orgel L.E. Ageing of clones of mammalian cells. *Nature*, 1973, 243(5408):441-445.

Osorio F.G., Navarro C.L., Cadiñanos J., López-Mejía I.C., Quirós P.M., Bartoli C., Rivera J., Tazi J., Guzmán G., Varela I., Depetris D., de Carlos F., Cobo J., Andrés V., De Sandre-Giovannoli A., Freije J.M., Lévy N., López-Otín C. Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging. *Sci Transl Med.* 2011, 3(106):106-107.

Paller A.S., Mallory S.B. Acquired forms of immunosuppression. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1991,24(3):482-488.

Palomares T., Alonso-Varona A., Alvarez A., Castro B., Calle Y., Bilbao P. Interleukin-2 increases intracellular glutathione levels and reverses the growth inhibiting effects of cyclophosphamide on B16 melanoma cells. *Clinical Exp. of Methastases* 1997, 15(3): 329-337.

Pantano C., Reynaert N.L., van der Vliet A., Janessen-Heininger Y.J. Redox-sensitive kinases of the nuclear factor-kB signaling pathway. *Antioxidant Redox Signaling* 2006, 8(9-10): 1791-1805.

Park E.S., Kang J.C., Kang D.H., Jang Y.C., Yi K.Y., Chung H.J., Park J.S., Kim B., Feng Z.P., Shin H.S. 5-AIQ inhibits H₂O₂-induced apoptosis through reactive oxygen species scavenging and Akt/GSK-3 β signaling pathway in H9c2 cardiomyocytes, *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 2013, 268(1): 90-98.

Passos J.F., Miwa S., von Zglinicki T. Measuring reactive oxygen species in senescent cells. *Methods Mol. Biol.* 2013, 965:253-263.

Passos J.F., von Zglinicki T. Oxygen free radicals in cell senescence: are they signal transducers? *Free Radical Research* 2006, 40(12): 1277-1283.

Passos J.F., Saretzki G., von Zglinicki T. DNA damage in telomeres and mitochondria during cellular senescence: is there a connection? *Nucleic Acids Research* 2007, 35(22): 7505-7513.

Peres J. Telomere research offers insight on stress-disease link. *Journal of National Cancer Institute* 2011, 103(11): 848-850.

Perichon R., Bourre J.M., Kelly J.F., Roth G.S. The role of peroxisomes in aging, *Cell. Mol. Life Sci.* 1998, 54(7): 641-652.

Petrinelli P., Elli R., Marcucci L., Tabolacci E., Barbieri C., Antonelli A. Telomeric associations and chromosome instability in ataxia telangiectasia T cells characterized by TCL1 expression. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2001,125(1):46-51.

Price G.B., Stewart S., Krogsrud R.L. Characterization of stem cells and progenitors of hemopoiesis by cell sorting. *Blood Cells* 1979,5(2):161-174.

Prodosmo A., De Amicis A., Nisticò C., Gabriele M., Di Rocco G., Monteonofrio L., Piane M., Cundari E., Chessa L., Soddu S. p53 centrosomal localization diagnoses ataxia-telangiectasia homozygotes and heterozygotes. *J. Clin. Invest.* 2013,123(3):1335-1342.

Qi L., Strong M.A., Karim B.O., Armanios M., Huso D.L., Greider C.W. Short telomeres and ataxia-telangiectasia mutated deficiency cooperatively increase telomere dysfunction and suppress tumorigenesis. *Cancer Res.* 2003, 1;63(23):8188-8196.

Radisavljevic Z.M., Gonzalez-Flecha B. TOR kinase and Ran are downstream from OI3K/Akt in H₂O₂-induced mitosis. *J.Cell Biochem.* 2004, 91(6):1293-1300.

Rao G.N., Berk B.C. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression. *Circulation Research* 1992, 70(3): 593-599.

Rao G., Xia E., Nadakavukaren M.J., Richardson A. 1990., Effect of dietary restriction on the age-dependent changes in the expression of antioxidant enzymes in rat liver. *J. Nutr.*1990, 120(6):602–609.

Rhee S.G., Bae Y.S., Lee S.R., Know J. Hydrogen peroxide: a key messenger that modulates protein phosphorylation through cysteine oxidation. *Science of STKE.* 2000, 53: 1-6.

Reiman A., Srinivasan V., Barone G., Last J.I., Wootton L.L., Davies E.G., Verhagen M.M., Willemsen M.A., Weemaes C.M., Bird P.J., Izatt L., Easton D.F., Thompson D.J., Taylor A.M. Lymphoid tumours and breast cancer in ataxia-telangiectasia; substantial protective effect of residual ATM kinase activity against childhood tumors. *Brit.J.Cancer* 2011, 105(4):586-591.

Rodriguez S., Coppedè F., Sagelius H., Eriksson M. Increased expression of the Hutchinson-Gilford progeria syndrome truncated lamin A transcript during cell aging. *Eur. J. Hum. Genet.* 2009,17(7):928-937.

Salk D. , Au K. , Hoehn H. , Martin G. M. Cytogenetics of Werner's syndrome cultured skin fibroblasts: variegated translocation mosaicism. *Cytogenet. Cell Genet.* 1981,30(2):92-107.

Sauer H., Rahimi G., Hescheler J., Wartenberg M. Role of reactive oxygen species and phosphatidylinositol 3-kinase in cardiomyocyte differentiation of embryonic stem cells. *FEBS Letters* 2000, 476(3): 218-223.

Sauer H, Wartemberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cell Physiology and Biochemistry* 2001, 11(4):173-186.

Scaffidi P., Misteli T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science.* 2006 ,312(5776):1059-1063.

Schulz V.P., Zakian V.A., Ogburn C.E., McKay J., Jarzebowicz A.A., Edland S.D., Martin G.M. Accelerated loss of telomeric repeats may not explain accelerated replicative decline of Werner syndrome cells. *Hum. Genet.* 1996, 97(6):750-754.

Sekharam M., Trotti A., Cunnick J.M., Wu J. Suppression of fibroblast cell cycle progression in G1 phase by N-acetylcysteine. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1998, 149(2): 210-216.

Shapiro B.L., Newburger P.E., Klempner M.S., Dinanuer M.C. Chronic granulomatous disease presenting in a 69-year-old man. *New England Journal of Medicine* 1991, 325(25): 1786-1790.

Shen M., Cawthon R., Rothman N., Weinstein SJ, Virtamo J., Hosgood H.D. 3rd, Hu W., Lim U., Albanes D., Lan Q. A prospective study of telomere length measured by monochrome multiplex quantitative PCR and risk of lung cancer. *Lung Cancer* 2011, 73(2): 133-137.

Shiloh Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity. *Nat. Rev. Cancer.* 2003,3(3):155-168.

Shiloh Y., Kastan M.B. ATM: genome stability, neuronal development, and cancer cross paths. *Adv. Cancer Res.* 2001, 83:209-54.

Shiloh Y., Ziv Y. The ATM protein kinase: regulating response to genotoxic stress, and more. *Nat.Rev.Mol.Cell Biol.* 2013, 14(4):197-210.

Shumaker D.K., Dechat T., Kohlmaier A., Adam S.A., Bozovsky M.R., Erdos M.R., Eriksson M., Goldman A.E., Khuon S., Collins F.S., Jenuwein T., Goldman R.D. Mutant nuclear lamin A leads to progressive alterations of epigenetic control in premature aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006, 103(23):8703-8708.

Skulachev V.P., Anisimov V.N., Antonenko Yu.N., Bakeeva L.E., et al., An attempt to prevent senescence: a mitochondrial approach. *Biochimica et Biophysica Acta* 2009, 1787(5): 437-61.

Skulachev V.P. SkQ treatment and food restriction – two ways to retard an aging program of organisms. *Aging (Albany NY)* 2011, 3(11):1045-1050.

Sohal R.S., Allen R.G. Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: an unifying hypothesis. *Exper.Gerontol.* 1001,26(5):511-517.

Spillare E.A., Robles A.I., Wang X.W., Shen J.C., Yu C.E., Schellenberg G.D., Harris C.C. p53-mediated apoptosis is attenuated in Werner syndrome cells. *Genes Dev.* 1999, 13(11):1355-1360.

Spolarics Z., Wu J.X. Role of glutathione and catalase in H₂O₂ detoxification in LPS-activated hepatic endothelial and Kupffer cells. *American Journal of Physiology.* 1997; 273(6, part1): G1304-G1311.

Stone J.R., Yang S. Hydrogen peroxide: a signaling messenger. *Antioxid.Redox Signal.* 2006, 8(3-4):243-270.

Szilard L. On the nature of the aging process. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A.* 1959, 45(1):30-45.

Szostak J.W., Blackburn E. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell* 1982, 29(1):245-255.

Terlecky S.R., Koepke J.I., Walton P.A. Peroxisomes and aging. *Biochimica et Biophysica Acta* 2006, 1763(12): 1749-1754.

Thompson D., Duedal S., Kirner J., McGuffog L., Last J., Reiman A., Byrd P., Taylor M., Easton D.F. Cancer risk and mortality in heterozygous ATM mutation carriers. *J.Nat.Cancer Inst.* 2005, 97(11):813-822.

Thompson T.A., Kim K., Gould M.N. Harvey ras results in a higher frequency of mammary carcinomas than Kirsten ras after direct retroviral transfer into the rat mammary gland. *Cancer Research* 1998, 58(22): 5097-5104.

Tomás-Loba A., Bertnades de Jesus B., Mato J.M., Blasko M.A. A metabolic signature predicts biological age in mice. *Aging Cell* 2013, 12(10):93-101.

Trifunovic A., Hansson A., Wredenberg A., Rovio A.T., Dufour E., Khvorostov I., Spelbrink J.N., Wibom R., Jakobs H.T., Larsson N.G. Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc.Natl Acad.Sci.USA* 2005, 102(50):17993-17998.

Trifunovic A., Wredenberg A., Falkenberg M., Spelbrink J.N., Rovio A.T., Bruder C.E., Bohlooly Y.M., Gidlof S., Oldfors A., Wibom R., Tornell J., Jakobs

H.T., Larsson N.G. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 2004, 429(6990):417-423.

Turner S., Hartshorne G.M. Telomere length in human pronuclei, oocytes and spermatozoa. *Mol.Hum.Reprod.* 2013 (in Press).

Van Remmen H., Jones D.P., Current thoughts on the role of mitochondria and free radicals in the biology of aging. *J.Gerontol.A. Biol.Sci.Med.Sci.* 2009, 64(2):171-174.

Vávrová J., Rezáčová M. The importance of senescence in ionizing radiation-induced tumor suppression. *Folia Biol. (Praha)* 2011, 57(2):41-46.

Vermulst M., Bielas J.H., Kujoth G.C., Ladiges W.C., Rabinovich P.S., Prolla T.A., Loeb L.A. Mitochondrial point mutations do not limit the normal lifespan of mice. *Nat.Genet.* 2007, 39(4):540-543.

Vilenchik M.M., Knudson A.G. Inverse radiation dose-rate effects on somatic and germ-line mutations and DNA damage rates. *Proc.Natl Acad.Sci.USA* 2000, 97(10):5381-5386.

Von Zglinicki T., Saretzki G., Döcke W., Lotze C. Midl hyperoxya shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Experimental Cell Research* 1995, 220(1): 186-93.

Von Zglinicki T., Pilger R., Sitte N. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts. *Free Radical Biology and Medicine* 2000, 28(1): 64-74.

Von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochemical Science* 2002, 27(7): 339-44.

Wang L., Yang W., Ju W., Wang P., Zhao X., Jenkins E.C., Brown W.T., Zhong N. A proteomic study of Hutchinson-Gilford progeria syndrome: Application of 2D-chromotography in a premature aging disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012,417(4):1119-11126.

Wen J.K., Osimi T., Hashimoto T., Ogata M. Diminished synthesis of catalase due to the decrease in catalase mRNA in Japanese-type acatalasemia. *Physiol. Chem. Phy. Med. NMR.* 1988, 20(3):171–176.

Whalley L.J., Deary I.J., Appleton Ch.L., Starr J.M. Cognitive reserve and the neurobiology of cognitive aging. *Ageing Research Reviews*, 2004,3(4):369-382.

Wolf F.I., Fasanella S., Tedesco B., Cavallini G., Donati A., Bergamini E., Cittadini A. Peripheral lymphocyte 8-OHdG levels correlate with age-associated

increase of tissue oxidative DNA damage in Sprague-Dawley rats. Protective effects of caloric restriction. *Exp. Gerontol.* 2005, 40(3):181-188.

Wyllie F.S., Jones C.J., Skinner J.W., Haughton M.F., Wallis C., Wynford-Thomas D., Farager R.G.A., Kipling D. Telomerase prevents the accelerated cell ageing of Werner syndrome fibroblasts. *Nature* 2000, 24(1): 16-17.

Yang S.H., Chang S.Y., Andres D.A., Spielmann H.P., Young S.G., Fong L.G. Assessing the efficacy of protein farnesyltransferase inhibitors in mouse models of progeria. *J. Lipid Res.* 2010,51(2):400-405.

Yamasoba T., Someya S., Yamada C., Weindruch R., Prolla T.A., Tanokura M. Role of mitochondrial dysfunction and mitochondrial DNA mutations in age-related hearing loss. *Hear Res.* 2007, 226(1-2):185-193.

Yang S.H., Qiao X., Fong L.G., Young S.G. Treatment with a farnesyltransferase inhibitor improves survival in mice with a Hutchinson-Gilford progeria syndrome mutation. *Biochim. Biophys. Acta* 2008,1781(1-2):36-39.

Yegorov Y.E., Semenova I.V., Karachentsev D.N., Semenova M.L., Zelenin A.V. Correlation of survival time of fibroblasts and their proliferative potentials with longevity of different mouse strains. *Membrane and Cell Biology* 2001, 14(6): 855-859.

Yoon K.H., Ko S.H., Cho J.H., et al., Selective beta-cell loss and alpha-cell expansion in patients with type 2 diabetes mellitus in Korea. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003, 88(5):2300-2308.

Zhang P., Dilley C., Mattson M.P. DNA responses in neural cells: Focus on the telomere. *Neuroscience* 2007, 145(4): 1439-1448.

Zhang J., Lian Q., Zhu G., Zhou F., Sui L., Tan C., Mutalif R.A., Navasankari R., Zhang Y., Tse H.F., Stewart C.L., Colman A. A human iPSC model of Hutchinson-Gilford progeria reveals vascular smooth muscle and mesenchymal stem cell defects. *Cell Stem.Cell.* 2011, 8(1):31-45.