

ГЕРОНТОЛОГИЯ

УДК 576.35:57.017.6

КАКОЕ СТАРЕНИЕ У ДРОЖЖЕЙ “ПРАВИЛЬНОЕ”?

А.Н. Хохлов

Сектор эволюционной цитогеронтологии, биологический факультет,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru

Рассмотрены две модельные системы — “репликативное старение” и “хронологическое старение” (ХС), используемые для геронтологических исследований на дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. В первом случае анализируют количество дочерних клеток, которое может дать одна материнская до необратимой остановки клеточных делений. Это делает данную модель сходной с широко известной моделью Хейфлика. В случае ХС изучают выживание популяции дрожжевых клеток, находящихся в стационарной фазе роста. Отмечается сходство второй модельной системы с моделью “стационарного старения”, используемой в лаборатории автора для цитогеронтологических экспериментов на клетках животных и человека. Предполагается, что концепция ограничения клеточной пролиферации как основной причины накопления с возрастом в клетках многоклеточных организмов макромолекулярных повреждений (главным образом, повреждений ДНК), приводящих к ухудшению функционирования тканей и органов и, как следствие, к увеличению вероятности смерти, позволяет объяснить, как происходит старение практически любых живых организмов. По-видимому, во всех случаях этот процесс запускается появлением медленно размножающихся или вообще не размножающихся клеток, что приводит к прекращению “разбавления” с помощью новых клеток накапливающихся на уровне клеточной популяции макромолекулярных дефектов. Заключается, что данные, полученные при испытании на модели ХС дрожжей различных факторов на предмет их геропромоторной или геропротекторной активности, с высокой степенью надежности могут быть использованы для понимания механизмов старения и долголетия у человека.

Ключевые слова: дрожжи, хронологическое старение, репликативное старение, “стационарное старение”, цитогеронтология, обзор.

Исследования возможной геропромоторной или геропротекторной активности химических соединений или физических факторов (излучений) проводятся, как правило, на различных моделях, так как такие работы на людях и животных либо невозможны по этическим причинам, либо занимают очень много времени. Поэтому часто выбор делается в пользу модельных систем, основанных на использовании культивируемых клеток или популяций одноклеточных организмов. Это позволяет во много раз ускорить процесс тестирования, однако создает методологическую проблему, связанную с недостаточной четкостью определения для таких моделей термина “старение”. Если для человека и животных это определение звучит как “совокупность возрастных изменений организма, приводящих к увеличению вероятности его смерти”, то для клеточных культур существует большое количество таких определений, причем часто они даже принципиально различаются по смыслу. Данный вопрос уже неоднократно затрагивался нами ранее в соответствующих публикациях [1–5]. Кроме того, процедура получения и поддержания нормальных клеток, которым свойствен феномен Хей-

флика, все-таки достаточно трудоемка, время же существования непрерывно пересеваемой культуры таких клеток обычно не превышает 6–7 мес., а создание значительного запаса клеток, замороженных на определенном пассаже, также является не очень простой задачей и, к тому же, вносит дополнительный разброс в получаемые на размороженных клетках данные.

В связи с этим в последние годы получили широкое распространение геронтологические исследования на дрожжах — одноклеточных эукариотических организмах, многие генетические и биохимические особенности которых сходны с таковыми для клеток высших организмов [6]. Как правило, такие работы проводят на *Saccharomyces cerevisiae*, для которых существуют две основные модельные системы, обеспечивающие проведение геронтологических экспериментов [7]. Первая — так называемое “репликативное старение”, основанное на феномене ограниченного количества дочерних клеток, которое может дать одна материнская. Эта модель очень похожа на модель Хейфлика, в основе которой лежит ограниченная способность нормальных клеток человека или животных к пролиферации.

Однако надо заметить, что в отличие от ситуации с культивируемыми клетками человека и животных, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* дочерняя клетка (которая обычно гораздо меньше материнской) образуется в результате асимметричного почкования. При этом материнская клетка теряет способность к такому почкованию через определенное количество делений, после чего претерпевает деградацию и лизис, а дочерние “рождаются совсем юными”. Этот процесс похож на старение пула стволовых клеток у высших организмов [8].

Вторая модельная система — “хронологическое старение” (ХС), которое претерпевает популяция дрожжевых клеток в стационарной фазе роста, когда их размножение остановлено тем или иным способом [9]. При этом жизнеспособность клеток оценивается, как правило, по их способности к образованию колоний в свежей ростовой среде [6]. Аналогом этой модели является модель “стационарного старения” (СС), используемая для цитогеронтологических экспериментов на самых разных культивируемых клетках многоклеточных организмов [3, 10–12]. Надо заметить, что в случае дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, у которых две одинаковые дочерние клетки образуются путем симметричного деления (fission) одной материнской, “работает” лишь вторая модель [13].

Как при ХС, так и при СС размножение клеток прекращается либо из-за истощения питательной среды, либо из-за значительного понижения pH, либо из-за контактного торможения при достижении насыщающей плотности культуры [14]. После этого начинается “старение” клеток, выражающееся, во-первых, в появлении на самых разных уровнях организации повреждений, сходных с повреждениями клеток стареющего многоклеточного организма, а во-вторых, в экспоненциальном снижении жизнеспособности, определяемой теми или иными методами [11, 12].

Хотелось бы подчеркнуть, что выбор определенной модельной системы для исследований зависит не только от удобства использования, но и от той концепции старения, которой придерживается конкретный исследователь. При этом очень желательно, чтобы такая концепция могла объяснить, каким образом стареют различные организмы, начиная с примитивных одноклеточных и кончая самыми сложными многоклеточными типа человека. Кроме того, было бы неплохо, если бы эта теория еще и помогла понять, каким образом некоторые организмы вообще избегают старения [15–17].

К сожалению, феномен ограниченной способности нормальных клеток к пролиферации, связанный с укорочением их теломер при каждом делении, не может объяснить старение высокоорганизованных организмов, у которых этот процесс, по-видимому, определяется в основном возрастными изменениями органов и тканей, состоящих из постмитотических (неделяющихся) клеток. Очевидно, что даже если мы обеспечим увеличение митотического потенциала таких клеток с помощью тех или иных воздействий, это никак не отразится на старении и продолжительности жизни многоклеточного организма. Сходным образом, “дрожжевая” модель репликативного старения, на наш взгляд, не дает ответа на многие вопросы об общих механизмах старения живых существ.

Нам представляется, что концепция ограничения клеточной пролиферации как основной причины накопления с возрастом в клетках многоклеточных организмов макромолекулярных повреждений (главным образом, повреждений ДНК), приводящих к ухудшению функционирования тканей и органов и, как следствие, к увеличению вероятности смерти, позволяет объяснить, как происходит старение практически любых живых организмов [3, 10, 15, 18–21]. По-видимому, во всех случаях этот процесс запускается появлением медленно размножающихся или вообще не размножающихся клеток, что приводит к прекращению “разбавления” с помощью новых клеток накапливающихся на уровне клеточной популяции макромолекулярных дефектов. Если же все клетки тела непрерывно обновляются, как у пресноводной гидры [17, 22], то мы имеем так называемый “бессмертный” организм, вероятность гибели которого остается на пренебрежимо малом уровне в течение практически неограниченного времени. Можно полагать, что по этой же причине виды с неограниченным ростом стареют гораздо медленнее тех, рост которых останавливается по завершении развития.

Если все сказанное верно, то выбор между двумя моделями для геронтологических исследований на дрожжах становится очевидным: модель ХС (как, по-видимому, и модель СС животных клеток) является оптимальной как для изучения механизмов старения, так и для тестирования различных факторов, представляющих интерес в качестве потенциальных геропротекторов и геропротекторов.

Автор признателен Г.В. Моргуновой за помощь в работе над рукописью статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khokhlov A.N. From Carrel to Hayflick and back, or what we got from the 100-year cytogerontological studies // Biophysics. 2010. Vol. 55. N 5. P. 859–864.
2. Khokhlov A.N., Wei L., Li Y., He J. Teaching cytogerontology in Russia and China // Adv. Gerontol. 2012. Vol. 25. N 3. P. 513–516.

3. Khokhlov A.N. Does aging need its own program, or is the program of development quite sufficient for it? Stationary cell cultures as a tool to search for anti-aging factors // Curr. Aging Sci. 2013. Vol. 6. N 1. P. 14–20.
4. Khokhlov A.N. Evolution of the term “cellular senescence” and its impact on the current cytogerontological re-

search // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2013. Vol. 68. N 4. P. 158–161.

5. *Khokhlov A.N.* Impairment of regeneration in aging: appropriateness or stochastics? // *Biogerontology*. 2013. Vol. 14. N 6. P. 703–708.

6. Aging research in yeast: Subcell. Biochem. Vol. 57 / Eds. M. Breitenbach, S.M. Jazwinski, and P. Laun. Springer Netherlands, 2012. 368 pp.

7. *Longo V.D., Shadel G.S., Kaeblerlein M., Kennedy B.* Replicative and chronological aging in *Saccharomyces cerevisiae* // *Cell Metab*. 2012. Vol. 16. N 1. P. 18–31.

8. *Laun P., Bruschi C.V., Dickinson J.R., Rinnerthaler M., Heeren G., Schwimbersky R., Rid R., Breitenbach M.* Yeast mother cell-specific ageing, genetic (in)stability, and the somatic mutation theory of ageing // *Nucleic Acids Res*. 2007. Vol. 35. N 22. P. 7514–7526.

9. *Fabrizio P., Longo V.D.* The chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae* // *Aging Cell*. 2003. Vol. 2. N 2. P. 73–81.

10. *Khokhlov A.N.* Stationary cell cultures as a tool for gerontological studies // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1992. Vol. 663. P. 475–476.

11. *Khokhlov A.N., Klebanov A.A., Karmushakov A.F., Shilovsky G.A., Nasonov M.M., Morgunova G.V.* Testing of geroprotectors in experiments on cell cultures: choosing the correct model system // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2014. Vol. 69. N 1. P. 10–14.

12. *Khokhlov A.N., Morgunova G.V.* On the constructing of survival curves for cultured cells in cytogerontological experiments: a brief note with three hierarchy diagrams // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2015. Vol. 70. N 2. P. 67–71.

13. *Roux A.E., Quissac A., Chartrand P., Ferbeyre G., Rokeach L.A.* Regulation of chronological aging in *Schizo-*

saccharomyces pombe by the protein kinases Pka1 and Sck2 // *Aging Cell*. 2006. Vol. 5. N 4. P. 345–357.

14. *Конев С.В., Мажуль В.М.* Межклеточные контакты. Минск: Наука и техника, 1977. 312 с.

15. *Khokhlov A.N.* Decline in regeneration during aging: appropriateness or stochastics? // *Russ. J. Dev. Biol.* 2013. Vol. 44. N 6. P. 336–341.

16. *Jones O.R., Scheuerlein A., Salguero-Gómez R., Camarda C.G., Schaible R., Casper B.B., Dahlgren J.P., Ehrlén J., García M.B., Menges E.S., Quintana-Ascencio P.F., Caswell H., Baudisch A., Vaupel J.W.* Diversity of ageing across the tree of life // *Nature*. 2014. Vol. 505. N 7482. P. 169–173.

17. *Khokhlov A.N.* On the immortal hydra. Again // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2014. Vol. 69. N 4. P. 153–157.

18. *Хохлов А.Н.* Пролиферация и старение // *Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР. Серия “Общие проблемы физико-химической биологии”*. Т. 9. М.: ВИНТИ, 1988. 176 с.

19. *Khokhlov A.N.* Cell proliferation restriction: is it the primary cause of aging? // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1998. Vol. 854. P. 519.

20. *Khokhlov A.N.* Does aging need an own program or the existing development program is more than enough? // *Russ. J. Gen. Chem.* 2010. Vol. 80. N 7. P. 1507–1513.

21. *Khokhlov A.N.* What will happen to molecular and cellular biomarkers of aging in case its program is canceled (provided such a program does exist)? // *Adv. Gerontol.* 2014. Vol. 4. N 2. P. 150–154.

22. *Martinez D.E., Bridge D.* Hydra, the everlasting embryo, confronts aging // *Int. J. Dev. Biol.* 2012. Vol. 56. N 6–8. P. 479–487.

Поступила в редакцию
25.11.15

WHICH AGING IN YEAST IS “TRUE”?

A.N. Khokhlov

*Evolutionary Cytogerontology Sector, School of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University,
Leninskiye gory 1-12, Moscow, 119234, Russia;
e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru*

Two model systems — “replicative aging” and “chronological aging” (CA), used for gerontological research on the yeast *Saccharomyces cerevisiae* are compared. In the first case the number of daughter cells generated by an individual mother cell before cell propagation irreversibly stops is analyzed. This makes the model very similar to the well-known Hayflick model. In case of CA the survival of yeast cell population in the stationary phase of growth is studied. It is noted that the second model is pretty similar to the “stationary phase aging” model used in the author’s laboratory for cytogerontological studies on animal and human cells. It is considered that the conception of cell proliferation restriction as the main reason of age-related accumulation in the cells of multicellular organisms of macromolecular defects (mainly — DNA damage) leading to deterioration of tissue and organ functioning and, as a result, to the increase of death probability allows to explain how the aging process proceeds in almost any living organisms. Apparently, in all cases the process is initiated by appearance of slow propagating (or not propagating at all) cells which leads to the stopping “dilution”, with the help of new cells, of macromolecular defects accumulating at the level of whole cell population. It is concluded that data obtained in testing on the yeast CA model of various factors for their geroprotector or geroprotector activity can be with high reliability used for understanding mechanisms of human aging and longevity.

Key words: yeast, chronological aging, replicative aging, stationary phase aging, cytogerontology, review.

Сведения об авторе:

Хохлов Александр Николаевич — докт. биол. наук, зав. сектором эволюционной цитогеронтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-15-90; e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru.