

ГЕРОНТОЛОГИЯ

УДК 576.35:57.017.6

рН КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ И “СТАЦИОНАРНОЕ”/ХРОНОЛОГИЧЕСКОЕ СТАРЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОК**Г.В. Моргунова¹, А.А. Клебанов¹, Ф. Маротта², А.Н. Хохлов^{1,*}**¹*Сектор эволюционной цитогеронтологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;*²*ReGenera Research Group for Aging Intervention and San Babila Clinic, Corso Matteotti 1/A, 20121 Milano, Italy***e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru*

Существует точка зрения, согласно которой хронологическое старение (ХС) дрожжей и “стационарное” старение (СС) культивируемых клеток человека и животных являются следствием закисления ростовой среды. Однако целый ряд появившихся в последнее время работ свидетельствует о том, что этот процесс хотя и влияет в определенной степени на скорость “старения” клеток в стационарной фазе, но не определяет его полностью. По-видимому, определяющим фактором здесь является ограничение клеточной пролиферации, которое приводит к “старению” клеток даже в физиологически оптимальных условиях. При ХС дрожжей и при СС клеток млекопитающих ростовая среда закисляется до $\text{pH} \leq 4$. Если не допускать накопления кислоты в среде, можно увеличить продолжительность жизни культуры, однако клетки всё равно будут вымирать, только с меньшей скоростью. Наблюдаемые эффекты закисления среды при ХС и СС могут объясняться активацией высоко консервативных сигнальных путей роста, приводящих к развитию окислительного стресса, а эти процессы, в свою очередь, могут быть вовлечены в старение многоклеточных организмов и связаны с возникновением у них возрастных заболеваний. Ранее мы изучали влияние буферной ёмкости культуральной среды на СС трансформированных клеток китайского хомячка. Было установлено, что наличие в среде NEPES в концентрации 20 мМ не влияет на скорость роста клеток. При этом ростовые кривые выходили на “плато” в один и тот же день. Однако в среде с NEPES клетки, с одной стороны, достигали меньшей насыщающей плотности, чем в контроле (т.е. были “старше” согласно критериям геронтологической клеточно-кинетической модели), а с другой — претерпевали СС с гораздо меньшей скоростью (но все равно “старели”). Можно полагать, что внеклеточный рН, который, кстати, хорошо коррелирует с внутриклеточным, является хотя и важным (концепция И.А. Аршавского о роли ацидотической альтерации в старении), но не ключевым фактором, определяющим выживание клеток в стационарной культуре.

Ключевые слова: *рН ростовой среды, буферная ёмкость, клеточные культуры, “стационарное старение”, хронологическое старение, обзор*

Некоторое время назад на странице А.Н. Хохлова на портале ResearchGate появился комментарий к его статье «Какое старение у дрожжей “правильное”?» [1]. Согласно точке зрения автора этого комментария, Д.А. Кнорре, феномен хронологического старения (ХС) представляет собой лишь артефакт, связанный с закислением ростовой среды и легко устранимый с помощью различных агентов, стабилизирующих рН. В связи с этим, по мнению Кнорре, модель ХС непригодна для изучения старения многоклеточных организмов, а сам феномен (применительно, по-видимому, к любым клеточным культурам) представляет собой лишь процесс выживания клеток в стационарной фазе роста при “неестественных” условиях культивирования.

Модель “стационарного старения” (СС, англоязычный вариант — stationary phase aging) различных клеток животных и человека на протяжении многих лет используется в секторе эволюционной

цитогеронтологии биологического факультета МГУ как для изучения механизмов старения, так и для тестирования потенциальных геропротекторов и геропротомоторов [2]. Она основывается на идее, согласно которой ограничение клеточной пролиферации приводит к накоплению макромолекулярных повреждений в клетках культуры, сходных с повреждениями, накапливающимися в постмитотических клетках многоклеточного организма с возрастом [3–5]. В случае целого организма этот процесс (главным образом — накопление повреждений ДНК) инициирует нарушение функционирования органов и тканей, а это, в свою очередь, приводит к возрастанию вероятности смерти, т.е. к старению.

Собственно, обе упомянутые модельные системы (ХС и СС) фактически относятся к одному и тому же феномену, хотя для дрожжей чаще применяется термин ХС, а для животных клеток — СС. И ХС, и

СС обычно противопоставляются репликативному старению, выражающемуся в “возрастных” изменениях нормальных клеток по мере исчерпания ими митотического потенциала (феномен Хейфлика). При этом у обоих подходов к цитогеронтологическим исследованиям есть свои сторонники и противники [6–8]. Интересно также отметить, что феномен ХС/СС, судя по всему, свойствен и прокариотическим клеткам [9–12].

Суть ещё одной цитогеронтологической модели, применяемой для тестирования геропротекторов и геропромоторов и названной одним из нас клеточно-кинетической [13], заключается в том, что по изменению кинетики роста клеток в культуре (в пределах одного пассажа) под действием того или иного фактора делается вывод о возможном характере его влияния на процесс старения. При этом наиболее информативным параметром является насыщающая плотность культуры (“плато” на кривой роста). Чем больше этот показатель, тем более “молодыми” считаются исследуемые клетки. Данный подход основан на том обстоятельстве, что чем больше возраст донора нормальных фибробластов человека или их “возраст” *in vitro*, тем ниже “плато” на кривой их роста в культуре в пределах одного пассажа [14, 15]. Так вот, существуют данные о том, что этот показатель снижается при уменьшении рН культуральной среды в случае диплоидных фибробластов человека [16, 17]. Кроме того, пролиферативная активность культивируемых клеток тесно связана с величиной внутриклеточного и внеклеточного рН [18, 19]. Известно также, что при трансформации фибробластов китайского хомячка происходит увеличение внутриклеточного рН [20]. Существует даже целая концепция “ацидотического сдвига кислотно-щелочного гомеостаза” при старении *in vivo* [21], связывающая возрастное ухудшение функциональных возможностей клеток с уменьшением рН тканей. Все это позволяет предполагать наличие тесной связи между клеточным старением и вне- и внутриклеточным рН.

Ещё в 1985 г. Акатов и соавт. продемонстрировали [18], что насыщающая плотность культуры трансформированных клеток китайского хомячка сильно зависит от рН ростовой среды (чем меньше рН, тем меньше насыщающая плотность). В этой связи в наших собственных экспериментах [22], проведенных ещё 20 лет назад на клетках той же самой линии, мы попробовали оценить влияние изменения (прямо с момента посева) буферной ёмкости культуральной среды (путём добавки буфера HEPES до конечной концентрации 20 мМ в обычную среду Игла с 10% сыворотки крупного рогатого скота) на кинетику роста и СС культуры в герметически закрытых культуральных флаконах. Контрольная культура росла на такой же среде, но без HEPES. В опыте и контроле скорость роста клеток была приблизительно одинакова, причём кривые выходили на “плато” в один и тот же день.

Однако в среде с HEPES клетки достигали меньшей насыщающей плотности, чем в контроле, что позволило считать их, согласно принципам клеточно-кинетической модели [13], более “старыми”, чем контрольные. В то же время, в среде с HEPES клетки “стационарно старели” (т.е. погибали в стационарной фазе роста) с гораздо меньшей скоростью. Мы предположили, что HEPES в определенной степени токсичен для исследованных клеток, а замедление СС было связано как с большей средней жизнеспособностью клеток, выживших в результате селекции, так и с замедленным истощением культуральной среды при пониженной плотности культуры.

Надо сказать, что имеющиеся в настоящий момент данные о влиянии рН культуральной среды на ХС или СС весьма неоднозначны. Известно, что при ХС дрожжей происходит накопление уксусной кислоты в культуральной среде, а при СС клеток млекопитающих — лактата. Считается, что именно вследствие этого среда закисляется до $\text{pH} \leq 4$ [23–25]. Впрочем, существует и альтернативная точка зрения (А.Д. Виноградов, личное сообщение), согласно которой: 1) процесс гликолиза — превращение глюкозы в две молекулы лактата, сопряженный с образованием двух молекул АТФ, сам по себе НЕ приводит к закислению: отщепление протонов от молочной кислоты стехиометрически компенсируется их связыванием при фосфорилировании АДФ до АТФ при $\text{pH} > 7$. Наблюдаемое закисление ростовой среды обусловлено, по-видимому, различными АТФ-потребляющими (“АТФазными”) реакциями, сопровождающимися выделением протонов; 2) при образовании ацетата дрожжами закисление может происходить, а может и НЕ происходить, и определяется это, по-видимому, другими особенностями метаболизма в стационарной клеточной культуре. В обоих случаях значительную роль могут, в частности, играть выделение и поглощение CO_2 .

Тем не менее, независимо от конкретных механизмов закисления ростовой среды, оно действительно происходит в стационарной клеточной культуре и, судя по всему, вносит определенный вклад в ХС/СС [23–26]. По данным Мураками с соавт. [23], ограничение питания или буферизация среды до $\text{pH} 6.0$ замедляют ХС дрожжей. Однако результаты изучения возможного влияния буферизации среды роста дрожжей при ХС на их дальнейшее репликативное старение (известно, что ХС ускоряет последующее репликативное старение дрожжей [27]) выглядят противоречивыми. По одним данным [25], такое воздействие с помощью защелачивания способствует замедлению последующего репликативного старения, а по другим [28] — никак на него не влияет.

Отдельно хотелось бы остановиться на статье Леонтьевой и Благодосклонного, опубликованной в 2011 г. [24]. В ней совершенно правильно проводятся параллели между ХС дрожжей и СС культур клеток млекопитающих. Правда, нас несколько уди-

вила точка зрения авторов, согласно которой они провели такие параллели ВПЕРВЫЕ. Идея изучения механизмов старения на стационарных культурах самых разных клеток (включая нормальные и трансформированные клетки человека и животных) была сформулирована нами ещё в 80–90-х годах прошлого века [3, 29] и неоднократно упоминалась во многих наших последующих публикациях [30–33]. Тем более приятно, что данный подход получил одобрение и в нескольких последовавших комментариях к статье Леонтьевой и Благосклонного, опубликованных известными специалистами в области клеточного старения [34–37].

Хотелось бы обратить внимание на одно важное заключение, которое сделали в своей работе Леонтьева и Благосклонный. Они установили, что рапамицин (по-видимому, за счёт подавления образования лактата) продлевает жизнь “стационарно старым” клеткам. Количество живых клеток при этом остаётся таким же, как и при их культивировании без ингибитора TOR (target of rapamycin), но в культуре с рапамицином значительно увеличивается количество клеток, способных к делению. Таким образом, получается, что при СС происходит активация тех же самых метаболических сигнальных путей, что и при старении высших организмов, и важную роль в этом процессе играет, вероятно, закисление (возможно, происходящее, тем не менее, без участия лактата – см. выше). Ранее мы уже писали о связи аутофагии с клеточным старением и ограничением клеточной пролиферации [38]. Активация аутофагии путём ингибирования TOR, видимо, позволяет клеткам перейти на “экономный” режим питания и, как следствие, производить меньше продуктов метаболизма углеводов, образование которых в конечном итоге и приводит к закислению среды.

Основной вывод, который, как нам кажется, можно сделать из перечисленных статей, заключается в том, что, если не допускать накопления кислоты в ростовой среде (как дрожжей, так и клеток млекопитающих), можно увеличить продолжительность жизни культуры, однако клетки всё равно будут вымирать, хотя и с меньшей скоростью. Интересно, что в наших экспериментах по изучению СС клеток млекопитающих в герметически закрытых культуральных флаконах они “стареют по Гомпертцу” [2]. В то же время в некоторых работах, посвящённых влиянию буферной ёмкости ростовой среды на кинетику ХС дрожжей [26, 39], на графиках отчётливо видно, что в отсутствие “нор-

мализаторов” pH клетки просто быстро погибают “по экспоненте”, т.е. никакого старения нет. Поэтому не исключено, что только ПОСЛЕ буферизации среды эти клетки переходят в режим “нормального” ХС. Похожая, хотя и не полностью, картина наблюдается на соответствующих графиках в статье Леонтьевой и Благосклонного [24]. К сожалению, мы не смогли обнаружить в данной работе упоминания об использованной при культивировании концентрации CO_2 . В то же время, именно углекислотный буфер в ростовой среде, на наш взгляд, определяет ситуацию с динамикой pH при культивировании.

По-видимому, наблюдаемые эффекты закисления среды могут объясняться активацией высоко консервативных сигнальных путей роста, приводящих к развитию окислительного стресса, а эти процессы, в свою очередь, могут быть вовлечены в старение многоклеточных организмов и связаны с возникновением у них возрастных заболеваний [24, 39, 40].

Можно полагать, что внеклеточный pH, который, кстати, хорошо коррелирует с внутриклеточным, является хотя и важным (упомянутая выше концепция И.А. Аршавского о роли ацидотической альтерации в старении), но не ключевым фактором, определяющим выживание клеток в стационарной культуре.

И последнее, что хотелось бы отметить. Как следует из упоминавшегося в начале статьи комментария Д.А. Кнорре, он считает модели ХС и СС неподходящими для изучения механизмов старения высших организмов, ибо они отражают лишь выживание клеток в стационарной фазе роста при “неестественных” условиях культивирования. В этой связи необходимо подчеркнуть, что, как нам представляется, ВСЕ модельные системы функционируют в неестественных условиях. Если условия естественные, то это уже не модель! Другое дело, что “неестественные” условия должны ПО ВОЗМОЖНОСТИ моделировать то, что происходит в целом многоклеточном организме [41, 42]. И нам кажется, что закисление культуральной среды при ХС или СС является как раз таким, “правильным”, фактором.

Авторы благодарны А.Д. Виноградову за ценные замечания, высказанные при обсуждении рукописи статьи.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ, ч. 2 (фундаментальные научные исследования, № АААА-А16-116021660098-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khokhlov A.N. Which aging in yeast is “true”? // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2016. Vol. 71. N 1. P. 11–13.
2. 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.

3. Khokhlov A.N. Stationary cell cultures as a tool for gerontological studies // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1992. Vol. 663. P. 475–476.
4. 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.

5. Khokhlov A.N. Impairment of regeneration in aging: appropriateness or stochastic? // *Biogerontology*. 2013. Vol. 14. N 6. P. 703–708.
6. Fabrizio P., Longo V.D. The chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae* // *Aging Cell*. 2003. Vol. 2. N 2. P. 73–81.
7. Polymenis M., Kennedy B.K. Chronological and replicative lifespan in yeast: do they meet in the middle? // *Cell Cycle*. 2012. Vol. 11. N 19. P. 3531–3532.
8. 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.
9. Kapitanov A.B., Aksenov M.Y. Ageing of procaryotes. *Acholeplasma laidlawii* as an object for cell ageing studies: a brief note // *Mech. Ageing Dev*. 1990. Vol. 54. N 3. P. 249–258.
10. Nyström T. Stationary-phase physiology // *Annu. Rev. Microbiol*. 2004. Vol. 58. P. 161–181.
11. Hicks W.M., Kotlajich M.V., Visick J.E. Recovery from long-term stationary phase and stress survival in *Escherichia coli* require the L-isoadipyl protein carboxyl methyltransferase at alkaline pH // *Microbiology*. 2005. Vol. 151. N 7. P. 2151–2158.
12. Gonidakis S., Longo V.D. Assessing chronological aging in bacteria // *Cell senescence: methods and protocols* / Eds. L. Galluzzi, I. Vitale, O. Kepp, and G. Kroemer. Humana Press, 2013. P. 421–437.
13. Khokhlov A.N. The cell kinetics model for determination of organism biological age and for geroprotectors or geropromoters studies // *Biomarkers of aging: expression and regulation*. Proceeding / Eds. F. Licastro and C.M. Caldarera. Bologna: CLUEB, 1992. P. 209–216.
14. Schneider E.L., Smith J.R. The relationship of *in vitro* studies to *in vivo* human aging // *Int. Rev. Cytol*. 1981. Vol. 69. P. 261–270.
15. Macieira-Coelho A. Kinetics of the proliferation of human fibroblasts during their lifespan *in vitro* // *Mech. Ageing Dev*. 1977. Vol. 6. N 5. P. 341–343.
16. Froehlich J.E., Rachmeler M. Inhibition of cell growth in the G₁ phase by adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate // *J. Cell Biol*. 1974. Vol. 60. N 1. P. 249–257.
17. Конев С.В., Мажуль В.М. Межклеточные контакты. Минск: Наука и техника, 1977. 312 с.
18. Akatov V.S., Lezhnev E.I., Vexler A.M., Kublik L.N. Low pH value of pericellular medium as a factor limiting cell proliferation in dense cultures // *Exp. Cell Res*. 1985. Vol. 160. N 2. P. 412–418.
19. Kurkdjian A., Guern J. Intracellular pH: measurement and importance in cell activity // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. 1989. Vol. 40. P. 271–303.
20. Ober S.S., Pardee A.B. Intracellular pH is increased after transformation of Chinese hamster embryo fibroblasts // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1987. Vol. 84. N 9. P. 2766–2770.
21. Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития (основы негэнтропийного онтогенеза). М.: Наука, 1982. 270 с.
22. Овчинникова Н.В., Сорока А.Е., Хоронжак С.В., Прохоров Л.Ю., Ушаков В.Л., Хохлов А.Н. Буферная емкость культуральной среды: изучение в рамках клеточно-кинетической модели, применяемой для испытания геропротекторов и геропромоторов // *Цитология*. 1997. Т. 39. № 6. С. 498–499.
23. Murakami C.J., Wall V., Basisty N., Kaeblerlein M. Composition and acidification of the culture medium influences chronological aging similarly in vineyard and laboratory yeast // *PloS One*. 2011. Vol. 6. N 9. e24530.
24. Leontieva O.V., Blagosklonny M.V. Yeast-like chronological senescence in mammalian cells: phenomenon, mechanism and pharmacological suppression // *Aging* (Albany NY). 2011. Vol. 3. N 11. P. 1078–1091.
25. Murakami C., Delaney J.R., Chou A. et al. pH neutralization protects against reduction in replicative lifespan following chronological aging in yeast // *Cell Cycle*. 2012. Vol. 11. N 16. P. 3087–3096.
26. Burtner C.R., Murakami C.J., Kennedy B.K., Kaeblerlein M. A molecular mechanism of chronological aging in yeast // *Cell Cycle*. 2009. Vol. 8. N 8. P. 1256–1270.
27. Ashrafi K., Sinclair D., Gordon J.I., Guarente L. Passage through stationary phase advances replicative aging in *Saccharomyces cerevisiae* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999. Vol. 96. N 16. P. 9100–9105.
28. Wasko B.M., Carr D.T., Tung H., et al. Buffering the pH of the culture medium does not extend yeast replicative lifespan // *F1000Research*. 2013. Vol. 2. 216.
29. Хохлов А.Н. Пролиферация и старение // *Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР, серия “Общие проблемы физико-химической биологии”, том 9. М.: ВИНТИ, 1988. 176 с.*
30. Akimov S.S., Khokhlov A.N. Study of “stationary phase aging” of cultured cells under various types of proliferation restriction // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1998. Vol. 854. P. 520.
31. Khokhlov A.N. Cell proliferation restriction: is it the primary cause of aging? // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1998. Vol. 854. P. 519.
32. 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.
33. 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.
34. Demidenko Z.N. Chronological lifespan in stationary culture: from yeast to human cells // *Aging* (Albany NY). 2011. Vol. 3. N 11. P. 1041–1042.
35. Fabrizio P., Wei M. Conserved role of medium acidification in chronological senescence of yeast and mammalian cells // *Aging* (Albany NY). 2011. Vol. 3. N 12. P. 1127–1129.
36. Kaeblerlein M., Kennedy B.K. A new chronological survival assay in mammalian cell culture // *Cell Cycle*. 2012. Vol. 11. N 2. P. 201–202.
37. Mirisola M.G., Longo V.D. Acetic acid and acidification accelerate chronological and replicative aging in yeast // *Cell Cycle*. 2012. Vol. 11. N 19. P. 3532–3533.
38. Morgunova G.V., Klebanov A.A., Khokhlov A.N. Some remarks on the relationship between autophagy, cell aging, and cell proliferation restriction // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull*. 2016. Vol. 71. N 4. P. 207–211.
39. Burhans W.C., Weinberger M. Acetic acid effects on aging in budding yeast: are they relevant to aging in higher eukaryotes? // *Cell Cycle*. 2009. Vol. 8. N 14. P. 2300–2302.
40. Yucel E.B., Eraslan S., Ulgen K.O. The impact of medium acidity on the chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae*—lipids, signaling cascades, mitochondrial and vacuolar functions // *FEBS J*. 2014. Vol. 281. N 4. P. 1281–1303.
41. Morgunova G.V., Klebanov A.A., Khokhlov A.N. Interpretation of data about the impact of biologically active compounds on viability of cultured cells of various origin from a gerontological point of view // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull*. 2016. Vol. 71. N 2. P. 67–70.
42. Khokhlov A.N., Morgunova G.V. Testing of geroprotectors in experiments on cell cultures: pros and cons // *Anti-aging drugs: from basic research to clinical practice* / Ed. A.M. Vaiserman. Royal Society of Chemistry, 2017. P. 53–74.

Поступила в редакцию
08.02.2017
Принята в печать
02.03.2017

GERONTOLOGY

PH OF CULTURE MEDIUM AND STATIONARY PHASE/CHRONOLOGICAL AGING OF DIFFERENT CELLS

G.V. Morgunova¹, A.A. Klebanov¹, F. Marotta², A.N. Khokhlov^{1,*}¹*Evolutionary Cytoogerontology Sector, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1-12, Moscow, 119234, Russia;*²*ReGenera Research Group for Aging Intervention and San Babila Clinic, Corso Matteotti 1/A, 20121 Milano, Italy***e-mail: khokhlov@mail.bio.msu.ru*

There is a point of view that the chronological aging (CA) of yeast and the stationary phase aging (SPA) of cultured animal and human cells are a consequence of growth medium acidification. However, a number of recent publications indicate that the process influences, to a certain extent, on the rate of “aging” of cells in the stationary phase of growth but does not determine it completely. Apparently, the key factor in this case is the cell proliferation restriction which leads to “aging” of the cells even under physiologically optimal conditions. During yeast CA and SPA of mammalian cells the medium is getting acidified to $\text{pH} \leq 4$. Preventing the medium acidification could make it possible to increase the culture life span, but the cells will still die out, albeit at a slower rate. Effects of the medium acidification observed during CA and SPA can be explained by the activation of highly conserved growth signaling pathways leading to the oxidative stress development; these processes, in turn, can be involved in aging of multicellular organisms and play a role in their age-related diseases. A while ago we studied the effect of buffer capacity of growth medium on SPA of transformed Chinese hamster cells. We found that HEPES at 20 mM had no effect on the cell growth, and both control and experimental growth curves reached plateau level on the same day. However, the cells grown with HEPES, on the one hand, reached lower saturation density than the control ones (i.e., were “older” in terms of the gerontological cell kinetics model), and on the other – underwent SPA at much slower rate (though still were “getting older”). It can be assumed that extracellular pH which, by the way, is well correlated with intracellular pH, is very important (I.A. Arshavsky's concept on a role of the acidic alteration in aging) but not the key factor determining survival of cells in a stationary culture.

Keywords: *growth medium pH, buffer capacity, cell cultures, stationary phase aging, chronological aging, review*

Сведения об авторах

Моргунова Галина Васильевна – аспирантка сектора эволюционной цитогеронтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-15-90; e-mail: morgunova@mail.bio.msu.ru.

Клебанов Александр Александрович – научный сотрудник сектора эволюционной цитогеронтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-15-90; e-mail: klebanov@mail.bio.msu.ru.

Маротта Франческо – PhD, MD, руководитель Лаборатории исследований влияния на старение “Редженера” и директор клиники Сан-Бабила, Корсо Маттеотти 1/А, 20121 Милан, Италия. Тел. +39-024077243; e-mail: fmarchimede@libero.it

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.