

ОТ РЕДАКТОРА

УДК 576.35:57.017.6

КЛЕТОЧНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПОИСКУ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ:
ТРИДЦАТЬ ЛЕТ СПУСТЯ

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*

Краткий обзор представлений о возможности использования разработанной автором в 80-х годах XX века клеточно-кинетической модели для тестирования в экспериментах на клеточных культурах потенциальных геропротекторов и геропромоторов — факторов, замедляющих или ускоряющих, соответственно, старение животных и человека. Рассматривается процесс эволюции этой модели — от оценки только скорости размножения и насыщающей плотности клеток в непересеваемой культуре до снятия кривых их выживания в стационарной фазе роста и далее — до анализа возможной взаимосвязи всех частей кривой роста и последующего вымирания клеток. Анализируются возможные подходы к математическому и статистическому анализу получаемых в рамках данной модельной системы результатов. Подчеркивается, что такого рода исследования могут проводиться на клетках самой разной природы (нормальных и трансформированных клетках человека и животных, растительных клетках, дрожжах, микоплазмах, бактериях и др.), что делает возможным эволюционный подход к интерпретации полученных результатов. При этом наиболее перспективными, по мнению автора, являются эксперименты, проводимые на иммортализованных клетках человека и животных, так как они, с одной стороны, не являются раковыми, а с другой — обладают неограниченным митотическим потенциалом и поэтому не “стареют” при многочисленных делениях, как это, например, делают нормальные диплоидные фибробласты человека. Предполагается, что соответствующий математический анализ всей кривой роста и гибели непересеваемой клеточной культуры (от посева в культуральный флакон до полной гибели всех клеток) может позволить уточнить определенные взаимосвязи между развитием и старением многоклеточного организма, а также повысить достоверность выявления перспективных геропротекторов.

Ключевые слова: старение, клеточные культуры, геропротекторы, геропромоторы, клеточная пролиферация, “стационарное старение”, кинетика, тест-системы, обзор

В 80-х годах XX века мной была сформулирована идея, согласно которой по кинетике роста клеточной культуры в пределах одного пассажа можно судить о “биологическом возрасте” изучаемых клеток. Она основывалась на данных о том, что чем больше возраст донора диплоидных фибробластов человека, тем меньше скорость размножения этих клеток в культуре и достигаемая ими насыщающая плотность [1]. Схематическая иллюстрация этого феномена представлена на рис. 1. Сходные данные были получены и для нормальных клеток, “стареющих” *in vitro*, т.е. меняющихся при увеличении числа пассажей/делений [2–5]. На основании этого я предположил, что, воздействуя на клетки, культивируемые в пределах одного пассажа (т.е. без пересева), тем или иным химическим или физическим фактором и анализируя кинетику роста данной культуры, можно с определенной вероятностью сделать вывод о том, является ли он геропротектором или геропромотором (соответственно, фактором, замедляющим или ускоряющим старение животных или человека).

При этом, конечно, необходимо обеспечивать клеткам физиологически оптимальные условия для роста (культуральная среда, сыворотка, содержание CO₂ в воздухе и т.п.), в противном случае на кинетику роста мог бы, например, положительно повлиять любой митогенный агент и отрицательно — любой цитостатик. Предполагалось, что изучаемый фактор должен не просто действовать на пролиферативные характеристики клеток, а модифицировать их жизнеспособность. Насыщающая же плотность культуры должна была определяться только контактным торможением клеток (с моей точки зрения, наиболее физиологичный способ ограничения клеточной пролиферации), а не исчерпанием каких-либо ресурсов ростовой среды или ее модификацией размножающимися клетками. При этом некоторое закисление среды в стационарной фазе роста, по-видимому, не является решающим фактором, ограничивающим размножение клеток и приводящим их в дальнейшем к гибели [6, 7]. К сожалению, обеспечение таких условий — достаточно непростая задача, что накладывает на

данную модельную систему (названную мной “клеточно-кинетической моделью для тестирования потенциальных геропротекторов и геропромоторов” [8–10]) некоторые ограничения.

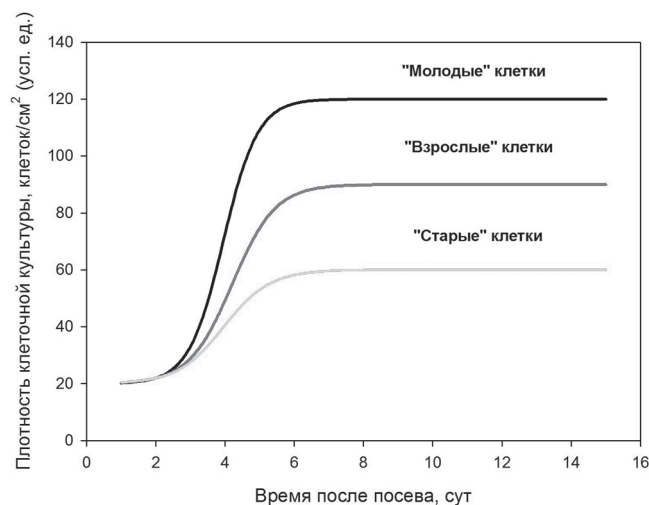


Рис. 1. Схематическое изображение кинетики роста пересаживаемой культуры диплоидных фибробластов человека, полученных от доноров разного возраста

Кроме того, я предположил, основываясь на определенных “эволюционных” представлениях, что сказанное выше должно быть верно не только для нормальных культивируемых клеток с ограниченным митотическим потенциалом, которым свойствен лимит Хейфлика, но и трансформированным клеткам животных и человека, а также бактериям, дрожжам, микоплазмам, растительным клеткам и т.д.

Необходимо подчеркнуть, что в соответствующей литературе, как мной уже неоднократно отмечалось, термин “насыщающая плотность клеточной культуры” достаточно часто либо не очень четко определен, либо заменяется другими терминами, смысл которых остается расплывчатым. Например, в работе Гаццолы с соавт. [2], проведенной на кожных фибробластах 16-летней девочки, были получены данные о строгой обратной корреляции между количеством удвоений клеточной популяции, пройденных культурой, и “плотностью клеток в состоянии сомкнутого монослоя”. К сожалению, это выражение не позволяет судить о том, что в действительности измеряли в работе, ибо четких критериев “сомкнутости” клеток не существует. Мы предпочитаем использовать выражение “насыщающая плотность клеточной культуры”, вкладывая в него следующий смысл: насыщающая плотность — это такая плотность клеток в культуре, при которой полностью прекращается их размножение. При этом надо заметить, что величина ее для разных клеток может очень сильно различаться и определяется, по-видимому, тонкими механизмами межклеточных контактов [11].

В этой связи интересны также данные о том, что некоторые стероидные гормоны, увеличивающие продолжительность жизни *in vitro* (“по Хейф-

лику”) диплоидных фибробластов человека, вызывают изменения кинетики роста этих клеток, свидетельствующие об их “омоложении” [12, 13]. Кроме того, в некоторых случаях изменение кинетики роста *in vitro* клеток человека свидетельствует о наличии у их донора определенных заболеваний и патологических процессов [14].

Для аппроксимации кривых роста изучавшихся нами клеточных культур мы использовали [8–10] уравнение Ферхюльста-Пирла, имеющее следующий вид:

$$N_t = \frac{N_0 \cdot K \cdot e^{r_m \cdot t}}{K - N_0 \cdot (1 - e^{r_m \cdot t})} \quad (1)$$

В этой формуле N_t — численность размножающейся популяции в момент времени t ; N_0 — численность популяции в нулевой момент времени; r_m — мгновенная рождаемость (r), определяемая как $\frac{dN_t}{dt} \cdot \frac{1}{N_t}$, при малой плотности популяции (т.е. максимально возможное значение r); K — высота “плато” на кривой роста популяции (ее насыщающая плотность).

Так как далеко не все посеянные во флакон или чашку Петри клетки способны прикрепиться к поверхности роста и начать делиться, мы заменили в уравнении (1) N_0 (количество посеянных клеток) на N_1 — число клеток, прикрепившихся к поверхности роста через сутки после посева. В связи с этим все кривые роста в наших работах мы строили, начиная их именно с 24-часовой точки. Необходимо заметить, что в случае суспензионных культур такая модификация формулы, по-видимому, не имеет смысла, так как клетки могут начать размножаться практически сразу после посева в свежую среду.

Вводя в соответствующую компьютерную программу экспериментальные данные, описывающие увеличение со временем плотности клеточной культуры, мы, с помощью метода нелинейной регрессии, получаем оценки всех трех параметров (N_1 , K и r_m), необходимых для построения и последующего анализа кинетических кривых. Попытки подбора параметров K и r_m при введении в компьютер конкретного значения N_1 , полученного в эксперименте, показали, что такой способ ухудшает соответствие получаемой функции экспериментальным данным.

В целом ряде проведенных мной и моими коллегами экспериментов на нормальных и трансформированных культивируемых клетках животных и человека было установлено, что, действительно, обнаруженные в геронтологических исследованиях на экспериментальных животных геропротекторы и геропромоторы ведут себя “правильным” образом при испытании на нашей модели. Правда, как оказалось, в некоторых случаях скорость размножения клеток (параметр r_m) менялась не так, как ожидалось. А вот насыщающая плотность культуры

(“плато” на кривой роста, параметр K), как правило, линейно зависела от дозы используемого фактора — повышалась под действием геропротекторов и понижалась под действием геропромоторов. Конечно, как отмечалось выше, нельзя полностью исключить цитостатическое или митогенное воздействие изученных препаратов/излучений, однако вполне возможно, что и в экспериментально-геронтологических исследованиях на животных эти факторы как раз реализуют свое действие именно таким образом. Впрочем, тот факт, что в некоторых экспериментах геропротекторы повышали высоту “плато”, но не влияли на скорость размножения клеток, позволяет как раз полагать, что такой эффект не определялся митогенным действием изучаемых соединений.

Результаты наших исследований, проведенных в 1980-х годах, изложены в целом ряде работ и суммированы в моей монографии [15] и соответствующем обзоре [10]. С помощью клеточно-кинетической модели мы провели тестирование целого ряда химических и физических факторов, таких как гамма-излучение (классический индуктор радиационного преждевременного старения), ДНК-алкилирующий агент тиофосфамид, низкочастотное электромагнитное поле, антиоксиданты эпигид (гидрохлорид 2-этил-6-метил-3-оксипиридина) и дибунол (бутилированный окситолуол), эфирное масло орегано и др.

Хотя в большинстве наших исследований были получены данные, подтверждавшие наше предположение о том, что выявленные в экспериментах на животных геропротекторы и геропромоторы “правильно” действуют в нашей клеточно-кинетической модели, у нас сложилось впечатление, что эта модельная система, как и модель Хейфлика, является “коррелятивной” [16]. Иначе говоря, получаемые данные, по-видимому, никак не связаны с реальными механизмами старения, а лишь отражают некоторые корреляции. Ситуация похожа на хорошо известную зависимость от возраста человека числа седых волос у него на голове, которое практически никак не коррелирует с вероятностью смерти [17].

В связи с этим в последующие годы мы сосредоточились на другой клеточной модели, названной нами “моделью стационарного старения” (stationary phase aging model). Суть ее подробно изложена в целом ряде наших публикаций (см., например, [18–24] и др.), так что здесь я не буду останавливаться на ее детальном описании. Отмечу только, что, считая эту модель “сущностной”, мы в ее рамках оценивали накопление различных “возрастных” изменений в стационарной культуре нормальных или трансформированных клеток животных или человека. Оказалось, что эти изменения действительно практически всегда совпадают с изменениями клеток стареющего многоклеточного организма. При этом в первое время кинетика гибели клеток в стационарной фазе роста оставалась “за кадром”. Однако впоследствии в некото-

рых экспериментах мы, ориентируясь в том числе и на данные работ по изучению “хронологического старения” дрожжей и бактерий [25–28], получили целый ряд соответствующих кривых выживания клеток в стационарной фазе роста непересеваемой культуры. Математический анализ этих кривых показал, что клетки вымирают в хорошем соответствии с формулой Гомпертца (рис. 2, схематическая иллюстрация сделана на основании данных нескольких наших экспериментов) [29]. В связи с этим в дальнейшем мы провели целый ряд исследований, направленных на анализ влияния некоторых биологически активных соединений как раз на кинетику вымирания культивируемых клеток в стационарной фазе роста (см., например, [7, 29–33]). Предполагалось, что замедление этого процесса может служить основанием для отнесения изучаемого препарата к геропротекторам [34, 35]. При этом все эксперименты мы проводили на хорошо изученной в нашей лаборатории линии трансформированных (но, тем не менее, способных к контактному торможению) клеток китайского хомячка. Мы полагали, что приводящее к ускорению/замедлению гибели клеток при их “стационарном старении” изменение жизнеспособности клеток под влиянием геропротектора (если он, конечно, не является препаратом, селективно действующим на раковые клетки) не должно принципиально зависеть от типа использованных в эксперименте клеток, поэтому не использовали нормальные фибробласты.

Впрочем, как уже отмечалось в одной из наших предыдущих работ [36], замечания в адрес используемых в нашей лаборатории моделей в связи с тем, что большинство экспериментов по тестированию геропротекторов проводятся нами на трансформированных, а не на нормальных клетках млекопитающих, мы слышим довольно часто. Однако такой выбор тест-объекта представляется нам вполне оправданным по следующим соображениям. Выше я уже отмечал, что феномен “стационарного”/хронологического старения свойствен самым разным клеткам, среди которых бактерии, дрожжи, цианобактерии, микоплазмы, клетки животных и растений. При этом “репликативный возраст” клеток с неограниченным митотическим потенциалом не изменяется ни от эксперимента к эксперименту, ни в процессе длительного культивирования как с пересевами, так и без них (в рамках модели “стационарного старения”), чего не скажешь о нормальных диплоидных фибробластах, теломеры которых укорачиваются при каждом делении. А от момента посева клеток до входа их в стационарную фазу роста они могут поделиться до 10 раз! Таким образом, нормальные клетки, входящие в стадию “плато”, будут иметь гораздо больший “репликативный возраст”, чем клетки в момент посева, так что дальнейшие их изменения могут определяться не только интересующим нас “стационарным старением”. По тем же причинам ста-

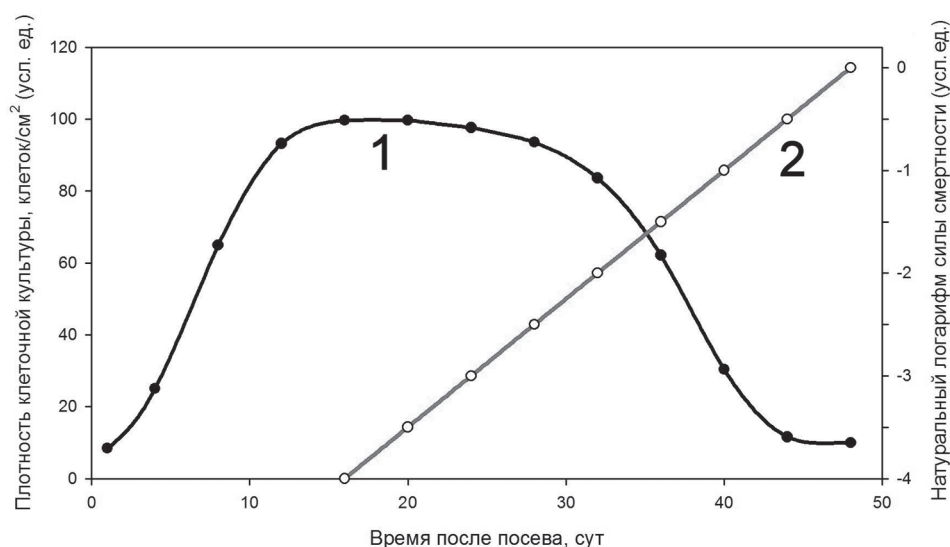


Рис. 2. Схематическое изображение кинетики роста и гибели непересеваемой культуры клеток. Показана зависимость плотности живых клеток (1) и натурального логарифма смертности клеток (2) от времени после посева

новятся проблематичными корректные повторы экспериментов (нормальные клетки в массовой культуре непрерывно изменяются со временем). Наконец, часто мы проводим так называемые “поперечные” (cross-sectional) эксперименты, в которых клетки засеваются в культуральные флаконы через определенные (иногда достаточно большие) интервалы времени, а используются для оценки изучаемых показателей в один конкретный момент, когда у групп флаконов разный “стационарный возраст”. Если работать на нормальных фибробластах, “считающих” пассаж, то обеспечить идентичность всех групп посеянных клеток практически невозможно. В данном случае, как говорится, “нельзя войти в одну реку дважды” [37, 38].

Не исключено, что “объединенная” клеточно-кинетическая модель, включающая в себя все участки кривой роста и последующей гибели клеток в стационарной фазе роста, позволит пролить дополнительный свет на давно известную (еще с XVIII века) взаимосвязь длительности периода развития млекопитающих и их максимальной продолжительности жизни (см., например, [39–41]). Как и у высших животных, в нашей модели сначала клетки очень быстро размножаются (“эмбриональное развитие”), потом средняя скорость пролиферации многократно снижается вплоть до прекращения изменения численности клеточной популяции (“завершение развития организма”), а затем начинается вымирание неделящихся клеток (“старение взрослого организма”). Модификация с помощью тех или иных способов начальной части кривой, как оказалось, с необходимостью влечет за собой и из-

менение ее второй части, описывающей старение и гибель клеток.

В заключение хотелось бы отметить следующее. К сожалению, насколько мне известно, подавляющее большинство работ, направленных на изучение взаимосвязи кинетики пролиферации культивируемых клеток животных и человека со старением, были выполнены в 70–80-е годы прошлого века. В то же время, мне кажется, что “клеточно-кинетический” подход к экспериментально-геронтологическим исследованиям незаслуженно утратил внимание специалистов в последние годы и требует “реанимации”. При этом, естественно, необходимо дальнейшее развитие упомянутых моделей, в частности — в плане разработки соответствующего математического аппарата, который мог бы не только пролить свет на некоторые закономерности старения многоклеточных организмов, но и улучшить эффективность поиска новых геропротекторов. Что же касается упомянутой проблемы выбора оптимальных объектов для такого рода исследований, то мне представляются наиболее перспективными в этом плане нормальные иммортализованные клетки человека [42]. Они не являются раковыми, но обладают неограниченным митотическим потенциалом. Именно на таких клетках в ближайшее время мы и планируем проводить наши эксперименты.

Автор благодарен Г.В. Моргуновой и А.А. Клебанову за помощь в подготовке рукописи статьи.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ, ч. 2 (фундаментальные научные исследования, № AAAA-A16-116021660098-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.

2. Gazzola G.C., Bussolati O., Longo N., Dall'Asta V., Franchi-Gazzola R., Guidotti G.G. Effect of *in vitro* ageing on the transport of neutral amino acids in human fibroblasts //

Cellular ageing. Monographs in developmental biology, vol. 17 / Ed. H.W. Sauer. Basel-N.Y.: S. Karger, 1984. P. 234–244.

3. *Macieira-Coelho A., Loria E., Berumen L.* Relationship between cell kinetic changes and metabolic events during cell senescence *in vitro* // Cell impairment in aging and development / Eds V.J. Cristofalo and E. Holečková. N.Y.-London: Plenum Press, 1975. P. 51–65.

4. *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.

5. *Ohashi M., Aizawa S., Ooka H., Ohsawa T., Kaji K., Kondo H., Kobayashi T., Noumura T., Matsuo M., Mitsui Y., Murota S., Yamamoto K., Ito H., Shimada H., Utakoji T.* A new human diploid cell strain, TIG-1, for the research on cellular aging // Exp. Gerontol. 1980. Vol. 15. N 2. P. 121–133.

6. *Wascko 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.

7. *Morgunova G.V., Klebanov A.A., Marotta F., Khokhlov A.N.* Culture medium pH and stationary phase/chronological aging of different cells // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2017. Vol. 72. N 2. P. 47–51.

8. *Чиркова Е.Ю., Головина М.Э., Наджарян Т.Л., Хохлов А.Н.* Клеточно-кинетическая модель для изучения геропротекторов и геропромоторов // Докл. АН СССР. 1984. Т. 278. N 6. С. 1474–1476.

9. *Хохлов А.Н., Головина М.Э., Чиркова Е.Ю., Наджарян Т.Л.* Анализ некоторых кинетических закономерностей роста культивируемых клеток. I. Модель // Цитология. 1985. Т. 27. N 8. С. 960–965.

10. *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 / Ed. F. Licastro and C.M. Caldarera. Bologna: CLUEB, 1992. P. 209–216.

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

12. *Kondo H., Kasuga H., Noumura T.* Effects of various steroids on *in vitro* lifespan and cell growth of human fetal lung fibroblasts (WI-38) // Mech. Ageing Dev. 1983. Vol. 21. N 3–4. P. 335–344.

13. *Macieira-Coelho A.* Action of cortisone on human fibroblasts *in vitro* // Experientia. 1966. Vol. 22. N 6. P. 390–391.

14. *Grünwald J., Mey J., Schönleben W., Hauss J., Hauss W.H.* Cultivated human arterial smooth muscle cells. The effect of donor age, blood pressure, diabetes and smoking on *in vitro* cell growth // Pathol. Biol. (Paris). 1983. Vol. 31. N 10. P. 819–823.

15. *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.

16. *Khokhlov A.N.* Cyto gerontology at the beginning of the third millennium: from “correlative” to “gist” models // Russ. J. Dev. Biol. 2003. Vol. 34. N 5. P. 321–326.

17. *Morgunova G.V., Kolesnikov A.V., Klebanov A.A., Khokhlov A.N.* Senescence-associated β -galactosidase – a biomarker of aging, DNA damage, or cell proliferation restriction? // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2015. Vol. 70. N 4. P. 165–167.

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

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.* From Carrel to Hayflick and back, or what we got from the 100-year cyto gerontological studies // Biophysics. 2010. Vol. 55. N 5. P. 859–864.

21. *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.

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

23. *Khokhlov A.N., Klebanov A.A., Morgunova G.V.* Does aging have a purpose? // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2017. Vol. 72. N 4. P. 222–224.

24. *Shilovsky G.A., Shram S.I., Morgunova G.V., Khokhlov A.N.* Protein poly(ADP-ribosylation) system: Changes in development and aging as well as due to restriction of cell proliferation // Biochemistry (Moscow). 2017. Vol. 82. N 11. P. 1391–1401.

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

26. *Nyström T.* Stationary-phase physiology // Annu. Rev. Microbiol. 2004. Vol. 58. P. 161–181.

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

28. *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.

29. *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.

30. *Alinkina E.S., Vorobyova A.K., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Burlakova E.B., Khokhlov A.N.* Cyto gerontological studies of biological activity of oregano essential oil // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2012. Vol. 67. N 2. P. 52–57.

31. *Yablonskaya O.I., Ryndina T.S., Voeikov V.L., Khokhlov A.N.* A paradoxical effect of hydrated C₆₀-fullerene at an ultralow concentration on the viability and aging of cultured Chinese hamster cells // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2013. Vol. 68. N 2. P. 63–68.

32. *Khokhlov A.N., Morgunova G.V., Ryndina T.S., Coll F.* Pilot study of a potential geroprotector, “Quinton Marine Plasma”, in experiments on cultured cells // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2015. Vol. 70. N 1. P. 7–11.

33. *Morgunova G.V., Klebanov A.A.* Impairment of the viability of transformed Chinese hamster cells in a nonsubcultured culture under the influence of exogenous oxidized guanosine is manifested only in the stationary phase of growth // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2018. Vol. 73. N 3. P. 124–129.

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

35. *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.

36. *Khokhlov A.N., Klebanov A.A., Morgunova G.V.* On choosing control objects in experimental gerontological research // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2018. Vol. 73. N 2. P. 59–62.

37. 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.

38. Khokhlov A.N., Klebanov A.A., Morgunova G.V. Anti-aging drug discovery in experimental gerontological studies: from organism to cell and back // *Aging: Exploring a complex phenomenon* / Ed. Sh.I. Ahmad. Boca Raton: Taylor & Francis, 2018. P. 577–595.

39. Charnov E.L. On evolution of age of maturity and the adult lifespan // *J. Evol. Biol.* 1990. Vol. 3. N 1–2. P. 139–144.

40. Charnov E.L., Berrigan D. Dimensionless numbers and life history evolution: age of maturity versus the adult lifespan // *Evol. Ecol.* 1990. Vol. 4. N 3. P. 273–275.

41. de Magalhães J.P., Costa J., Church G.M. An analysis of the relationship between metabolism, developmental schedules, and longevity using phylogenetic independent contrasts // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2007. Vol. 62. N 2. P. 149–160.

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

Поступила в редакцию
17.07.2018

Принята в печать
02.09.2018

EDITORIAL

CELL KINETIC APPROACHES TO THE SEARCH FOR ANTI-AGING DRUGS: THIRTY YEARS AFTER

A.N. Khokhlov

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

A brief overview of the ideas of the possibility of using the cell kinetic model developed by the author in the 1980s to test, in experiments on cell cultures, potential geroprotectors and geropromoters, which slow down or accelerate, respectively, the aging of animals and humans. The process of the evolution of this model is considered – from the estimation of only the cell reproduction rate and saturation density in a non-subcultured cell culture to the constructing of survival curves in the stationary phase of growth, and further – to an analysis of the possible interrelation between all parts of the curve of cells' growth and subsequent dying out. Possible approaches to mathematical and statistical analysis of the data obtained within the framework of this model system are analyzed. It is emphasized that such studies can be carried out on cells of very different nature (normal and transformed human and animal cells, plant cells, yeast, mycoplasmas, bacteria, etc.), which makes possible an evolutionary approach to the interpretation of the results obtained. At the same time, in the author's opinion, the most promising experiments are those carried out on immortalized cells of humans and animals, since they are not cancerous on the one hand, and on the other have an unlimited mitotic potential and, therefore, do not "age" in the process of numerous divisions, as, for example, normal human diploid fibroblasts do. It is assumed that the appropriate mathematical analysis of the entire growth and dying out curve of a non-subcultured cell culture (from seeding into a culture flask to the complete death of all cells) may allow us to clarify certain relationships between the development and aging of a multicellular organism, and to increase the reliability of identifying promising geroprotectors.

Keywords: *aging, cell cultures, geroprotectors, geropromoters, cell proliferation, stationary phase aging, kinetics, test systems, 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