

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА СУБКЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ**Губичева Александра Васильевна**

студент

Скакун Павел Вадимович

студент

Белорусский государственный медицинский университет
Минск (Беларусь)

Аннотация. Старение является одним из важнейших, но не до конца изученных биологических процессов. Понять его возможно только выяснив механизмы возрастных изменений. Поэтому обоснованными являются попытки исследователей найти разгадку этой проблемы, изучая старение на уровне клетки – ключевом уровне интеграции живого. Детальный анализ установленных возрастных субклеточных преобразований явился предметом нашего изучения.

Ключевые слова: старение, клетка, субклеточные структуры, ядро, органоиды, митохондрии.

AGE-RELATED CHANGES AT THE SUBCELLULAR LEVEL**Gubicheva Alexandra Vasilievna**

student

Skakun Pavel Vadimovich

student

Belarusian State Medical University, Minsk (Belarus)

Abstract. Aging is one of the most important but not completely studied biological processes. It is possible to understand it only by ascertaining the mechanisms of age-related changes. Therefore, attempts by researchers to find the solution to this problem are justified, by studying aging at the cell level – the key level of integration of the living. A detailed analysis of established age-dependent subcellular transformations was the subject of our study.

Keywords: aging, cell, subcellular structures, nucleus, organoids, mitochondria.

В настоящее время существует около 300 гипотез, объясняющих вероятные причины старения. Наиболее яркими теориями являются выдвинутая в 1956 г. Д. Харманом свободнорадикальная теория (Harman, 2006) теория клеточного (репликативного) старения Л. Хэйфлика (Hayflick, Moorhead, 1961; Hayflick, 1998), теломерная теория А.М. Оловникова (Оловников, 1971; Olovnikov 1996) [1]. Сегодня ученые пришли к выводу о том, что только синтез различных теорий может отразить реальные причины старения организма.

На данный момент накоплен большой фактический материал о возрастных изменениях метаболизма, структуры и функции клеток. Рассмотрим наиболее подробно некоторые изменения при старении клетки.

Старение характеризуется структурной реорганизацией плазматических мембран. При старении клеток изменяется содержание липидов в клеточной мембране, соотношение отдельных фосфолипидов, изменяется конформация и расположение в мембране мембранных белков, что изменяет биофизические свойства мембраны.

С возрастом падает величина мембранного потенциала. В старости меняется сопротивление клеточной мембраны электрическому току, падает возбудимость, увеличивается длительность абсолютной и относительной рефрактерной фаз, повышается чувствительность клеток к гуморальным факторам, ослабляются нервные влияния на клетки. Механизм модификации структурно-функциональных свойств мембран с возрастом включает в себя накопление лизофосфодипидов, влекущее за собой разрыхление мембранных структур. Это, в свою очередь, приводит к изменению конформационного состояния мембраносвязанных рецепторов и ферментов, участвующих в регуляции уровня внутриклеточного кальция. Установлено, что при старении происходит уменьшение величины АТФ-зависимого транспорта Ca^{2+} через плазматические мембраны клеток с одновременным увеличением сродства кальциевого насоса к данным ионам [2; 3].

При старении наблюдаются изменения клеточных органелл. Признаком старения клетки является повышение количества первичных лизосом. В них увеличивается количество недопереваренных субстанций, снижается стабильность лизосомальной мембраны, что может приводить к аутолизу клетки. Комплекс Гольджи гиперплазирован имеет признаки различной функциональной активности, в нем идентифицируются везикулярные компоненты. Шероховатый и гладкий эндоплазматический ретикулум четко контурируется, часто с заметным расширением цистерн, число его структур увеличено, уменьшается способность ЭПС связывать кальций. Уменьшается число рибосом. Число свободных полисом увеличено. Наблюдается вакуолизация цитоплазмы за счет расширения канальцев шероховатого эндоплазматического ретикулума и разрушения митохондрий, увеличение числа цитоплазматических микрофиламентов [2; 4].

Характерный признак старения клетки – изменение митохондрий: просветление матрикса, расширение межкristных промежутков, набухание, повреждение их внутренней и наружной мембраны. Общий объем митохондрий в клетке увеличивается при снижении площади мембран в каждой отдельной митохондрии. Происходит уменьшение функциональной активности митохондрий, скорости потребления кислорода и синтеза аденозинтрифосфата. Наряду с этим возрастает их размер – появляются гигантские митохондрии в их матриксе местами наблюдаются участки просветления, внутренние перегородки располагаются беспорядочно, иногда в виде завихрений, многие из них частично или полностью разрушены [1; 5].

Исследователи из нескольких научных центров Германии (Bertram Dauma, Andreas Waltera, Angelika Horsta) в 2013 г. описали возрастные митохондрии и провели их трехмерную реконструкцию, которая выявила, что с возрастом внутренняя мембрана теряет свои выступы, и это связано с изменениями АТФ-синтетазы [6]. АТФ-синтаза представляет

собой белковый комплекс, который расположен на внутренней мембране митохондрии. Его молекулы встроены в саму мембрану и образуют канал, по которому накопленные в полости между двумя мембранами митохондрий ионы водорода переходят в матрикс. Одна из частей комплекса вращается вокруг своей оси за счет этого тока ионов, и она же использует накопленную ионами энергию для синтеза молекул АТФ. В молодой клетке АТФ-синтазы формируют пары, которые располагаются на небольшом расстоянии друг от друга и за счет этого сгибают мембрану клетки, но со временем таких пар становится меньше. Количество складок мембраны уменьшается, в результате вместо сложной структуры она превращается в сравнительно гладкий двухслойный пузырь [6]. Описанные изменения приводят к снижению эффективности энергетических центров клетки, а также к нарушению обмена веществ в организме в целом [6].

В 2007 году учеными Кореи и Канады было установлено, что человеческий белок hFis1 участвует в делении митохондрий, рекрутируя фактор Drp1. Используя короткие «шпильки» антисмысловой РНК, авторы работы (Lee et al., 2007) подавили экспрессию hFis1 в клетках млекопитающих. Для таких клеток было отмечено значительное удлинение митохондрий, сопровождающееся целым рядом параллельных морфологических изменений. Клетки стали более крупными, гладкими, повысилась гранулярность. В общем морфотип клеток с пониженным уровнем экспрессии hFis1 можно назвать более «старым». Восстановление уровня экспрессии hFis1 сопровождалось возвратом клеток к «молодому» морфотипу. Интересно, что элонгация митохондрий сопровождалась «стандартным набором» биохимических маркеров старения: падением митохондриального мембранного потенциала, активизацией генерации активных форм кислорода, повреждения ДНК и т.д. Не ограничившись этими наблюдениями, авторы статьи подавили экспрессию фактора OPA1, критического компонента, управляющего слиянием ми-

тохондрий. Это привело к обратному результату, а именно к фенотипическому омоложению клеток. Таким образом, открыт еще один путь управления процессами клеточного старения [7].

При старении ядро и ядрышки увеличиваются в объеме, изменяются контуры кариолеммы, нередко наблюдается отслоение наружного листка, ядерная мембрана образует многочисленные складки для увеличения площади соприкосновения с цитоплазмой, расширяются ядерные поры [2; 4; 9].

При старении снижается концентрация нуклеиновых кислот в ядрах клеток, ослабляется включение меченого фосфора в молекулы ДНК и РНК, усиливается связь ДНК с белковыми молекулами в ДНП-комплексе, увеличивается количество и прочность связей ДНК с гистонами, нарастает количество ряда микроэлементов в молекуле ДНК, изменяется ряд физико-химических свойств ДНК, усиливается фрагментация молекулы ДНК и наступает ряд других серьезных изменений в генетическом аппарате клетки, что приводит к снижению содержания активного эухроматина (при старении объём гетерохроматина в ядре увеличивается в среднем от 63 % до 80 %), что определяет снижение синтеза белка в клетке. Количественные и качественные изменения в биосинтезе белка неизбежно приводят к возрастным сдвигам в состоянии клеточных и субклеточных мембран, сократительных белков, холино-, адрено-, серотонин-рецепторных белков, ферментов, участвующих в медиаторном обмене, активном транспорте ионов и др., что способствуют повышению чувствительности клеток в старости к гормональным и медиаторным факторам. Снижение активности ферментов биосинтеза медиаторов, наряду со структурными изменениями, ведет к ослаблению нервных влияний на клетки [2; 3].

При изучении пептидной регуляции старения на уровне клеточных структур было обнаружено, что короткие пептиды способны комплементарно взаимодействовать на промоторном участке генов со специфиче-

скими сайтами связывания ДНК, вызывая разделение цепей двойной спирали и активацию РНК полимеразы. Подтверждением этому служат полученные исследователями экспериментальные данные. Например, активация экспрессии гена теломеразы была получена при инкубировании с пептидом Ala-Glu-Asp-Gly при 30° С в течение 30 мин и способствовала удлинению теломер в 2,4 раза. Активация экспрессии гена сопровождается увеличением числа делений клеток на 42,5 %, что демонстрирует преодоление предела клеточного деления Хейфлика [9].

При старении происходят возрастные сдвиги в энергетике клетки: нарастает интенсивность гликолиза, тормозится цикл Кребса, снижается интенсивность тканевого дыхания, изменяется активность и содержание отдельных компонентов дыхательной цепи, падает поступление в клетку субстратов окисления, падает величина коэффициента АТФ/АДФ, что приводит к энергодефициту и снижению адаптивных механизмов [2].

Важным звеном в метаболических сдвигах в клетке при старении являются изменения в липидном обмене. В старости ткани обедняются фосфолипидами, цереброзидами, в них накапливаются холестерол, нейтральный жир, ненасыщенные липиды, ненасыщенные жирные кислоты. При старении в большинстве органов зарегистрировано увеличение содержания промежуточных и конечных продуктов ПОЛ (накапливается липофусцин – маркер клеточного старения. Работами ряда авторов при старении, наряду с повышением интенсивности ПОЛ, одновременно показано снижение концентрации или активности многих компонентов антиокислительной защиты (активность каталазы и пероксидазы, водорастворимых антиоксидантов и др.) [2].

Таким образом, в процессе старения наблюдаются многочисленные изменения всех клеточных структур, а также процессов ассимиляции и диссимиляции. Старение характеризуется структурной реорганизацией плазматических мембран, наблюдается изменение конформационного состояния мембраносвязанных рецепторов, падает уровень поляриза-

ции клеточной мембраны, увеличивается продолжительность абсолютной и относительной рефрактерных фаз. Повышается количество первичных лизосом, уменьшается устойчивость их мембран. Наблюдается вакуолизация цитоплазмы, увеличение числа цитоплазматических микрофиламентов. Старение сопровождается увеличением размеров митохондрий, повреждениями их наружной и внутренней мембран, просветлением матрикса, уменьшением числа димеров АТФ-синтетазы, что приводит к снижению функциональной активности митохондрий. В процессе старения изменяются размеры и форма ядра, увеличивается количество гетерохроматина, а также уменьшается ядерный контроль над цитоплазмой. Изменения в процессе биосинтеза белка ведут к изменению количества молекул полипептидов, к изменению состояния отдельных молекул. Учитывая белково-липидную структуру мембран эти изменения отражаются на процессах клеточной проницаемости. При старении наблюдаются изменения энергетического обмена, которые приводят к падению содержания АТФ и росту концентрации АДФ. Также снижается интенсивность распада липидов, увеличивается содержание промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, накапливается липофусцин – маркер клеточного старения. Снижается активность компонентов антиоксидантной защиты. К настоящему времени внутриклеточные возрастные изменения являются хорошо проиллюстрированными, а также определены некоторые реальные пути управления процессами клеточного старения.

Список использованных источников

1. Аксенова И.Е. Возрастные изменения ультраструктуры организации митохондрий // Геронтология и гериатрия. Старение клетки. Киев. Институт геронтологии. 1971. С. 131-136.
2. Мещанинов В.Н. Патохимия старения клетки. Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2008. 75 с.
3. Селявко В.В. Структурно-функциональное состояние плазматических мембран гладкомышечных клеток аорты крыс при старении: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1992. 18 с.
4. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: СПб.: «Наука», 2008. Т. 1. 481 с.
5. Кожина О.В. Особенности разобщающего действия жирных кислот в митохондриях печени при старении животных и при окислительном стрессе in vitro: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Йошкар-Ола, 2007. 14 с.
6. Dauma B., Waltera A., Horsta A., Osiewacz H.D., Kühlbrandt W. Age-dependent dissociation of ATP synthase dimers and loss of inner-membrane cristae in mitochondria / ed. by R. Henderson. Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, United Kingdom. 2013. July 22 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.pnas.org>
7. Seungmin L. Mitochondrial Fission and Fusion Mediators, hFis1 and OPA1, Modulate Cellular Senescence // J. Biol. Chem. 2007. P. 7.
8. Супиев А.Т. Нейроэндокринные клетки предстательной железы при старении: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2005. 24 с.
9. Хавинсон В.Х. Пептидная регуляция старения СПб.: Наука, 2009. 54 с.