



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ГУМАНИТАРНО-
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «ЮУрГУ»)

ЕСТЕСТВЕННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ЖИВОТНЫХ И ВЛИЯНИЕ НА НЕЁ СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ

Выпускная квалификационная работа
по направлению 44.03.05 – Педагогическое образование
(с двумя профилями подготовки)
Направленность программы бакалавриата
«Биология. Химия»

Проверка на объем заимствований:

61,27 % авторского текста

Работа рекомендована к защите
рекомендована/не рекомендована

«05» июня 2018г.

И. о. зав. кафедрой Общей
биологии и физиологии

(название кафедры)

Байгужин П.А.

Выполнил:

Студент группы ОФ-501/068-5-1

Томчук Глеб Владимирович

Научный руководитель:

к.б.н., доцент

Рязанова Людмила
Александровна

Челябинск
2018

Содержание

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ.....	6
1.1. Взаимосвязь основных понятий, связанных с изучением продолжительности жизни.....	6
1.2. Механизмы и теории старения	12
1.3. Видовые различия в продолжительности жизни.....	30
ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ.....	34
2.1. Антиоксиданты и их роль в процессе старения.....	34
2.2. Свойства диоксида серы, как газотрансмиттера и его возможная роль в увеличении продолжительности жизни.....	37
2.3. Действие температурного фактора на продолжительность жизни....	41
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА РАЗЛИЧИЙ ПАРАМЕТРОВ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ ОТ НАЛИЧИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И СРЕДОВОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ	44
3.1. Материалы и методы	44
3.2. Результаты и обсуждение.....	45
3.3. Методическая составляющая.....	49
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	52
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	54
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	58

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Проблемы, связанные с продолжительностью жизни, её ограниченностью (явление смерти) всегда волновали общество. Поиск возможности продлить жизнь людей и её активную, неограниченную старческими заболеваниями составляющую является важной миссией многих социальных институтов. Стратегия действий в интересах граждан старшего поколения в Российской Федерации до 2025 года, основной целью которой обозначено: устойчивое повышение продолжительности, уровня и качества жизни граждан старшего поколения, стимулирование их активного долголетия, подтверждает сказанное [27].

Научные поиски многих дисциплин, постепенно приближают человечество к открытию механизмов процесса старения. На сегодняшний день учёным ещё не удалось найти способ увеличения границ видовой продолжительности жизни людей, замедляя старение. В геронтологии оформилось большое количество теорий старения. Единой теории старения нет, механизмы старения до конца не изучены. Так же накапливаются противоречивые данные, требующие пересмотра популярных теорий старения [14]. К примеру, свободнорадикальная теория, постулирующая о главной роли свободнорадикальных реакций в процессе старения, поддерживается в настоящее время не всеми. В ряде исследований подтверждается роль окислительного стресса в старении, в других нет.

Исследование, проведённое в работе, можно отнести к группе экспериментов, подтверждающих роль окислительного стресса в старении. В проанализированных литературных источниках имеются сведения об антиоксидантных свойствах диоксида серы, следовательно, это соединение

может оказывать влияние на продолжительность жизни. Это положение мы проверили в экспериментах на дрозофиле.

Кроме того, в работе изучены межлинейные различия в продолжительности жизни дрозофил, влияние на неё температурного стресса, что имеет практическую значимость для сохранения и поддержания уникальных мутантных линий в лабораторных условиях.

Реализация проектной деятельности со школьниками в форме проведения исследований влияния на продолжительность жизни (ПЖ) дрозофил различных факторов, на наш взгляд, выступает хорошим способом приблизить будущее поколение к неразрешённым до конца проблемам науки.

Цель и задачи

Целью работы стало изучение продолжительности жизни животных на примере лабораторных линий плодовых мушек (*Drosophila melanogaster*) и влияние на неё физических и химических факторов.

Достижение этой цели осуществлялось в ходе решения следующих задач:

1. Рассмотреть проблему продолжительности жизни и влияния на неё различных факторов по литературным источникам.
2. Сравнить продолжительность жизни нескольких мутантных линий дрозофилы с линией дикого типа (C-S) и между собой.
3. Изучить влияние температурного стресса на ПЖ различных лабораторных линий дрозофил.
4. Проанализировать результат однократного воздействия диоксида серы на ПЖ дрозофил.
5. Подготовить со школьником проект, соответствующий тематике ВКР.

Объект исследования: *Drosophila melanogaster* (2n=8).

Предмет исследования: показатели продолжительности жизни плодовых мушек.

Научная новизна. В работе продемонстрирован геропротекторный эффект сернистого газа. Определено статистически значимое увеличение показателей, характеризующих продолжительность жизни у группы мух, однократно обработанных оксидом серы (IV), по сравнению с контрольной группой.

Теоретическая / практическая значимость. Результаты работы можно использовать в исследованиях, посвящённых изучению свойств газотрансмиттеров, а также в исследованиях продолжительности жизни в качестве сравнительных данных.

Материалы работы применимы в реализации проектной деятельности школьников, в учебном процессе при чтении курса лекций и проведении практических занятий со студентами по дисциплинам: «Генетика», «Физиология», «Адаптация биологических систем к факторам среды».

Апробация. Осуществлено курирование проекта учащегося 10 класса МАОУ СОШ № 15 г. Челябинска. Тема проекта: «Влияние диоксида серы на продолжительность жизни плодовых мушек».

Структура и объем работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, трёх глав, выводов, списка использованных источников и приложения.

Работа изложена на 57 страницах, содержит 3 таблицы и 3 рисунка.

ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

1.1. Взаимосвязь основных понятий, связанных с изучением продолжительности жизни

Для изложения сущности выпускной квалификационной работы, необходимо показать связь понятия продолжительность жизни (ПЖ) с другими понятиями и дать им определение.

Коренным для продолжительности жизни выступает понятие жизнь. По М. В. Волькенштейну *жизнь*: «Живые тела, существующие на Земле, представляют собой открытые, саморегулирующиеся и самовоспроизводящиеся системы, построенные из биополимеров — белков и нуклеиновых кислот». ПЖ, это время, которое организм существует как живое.

На ПЖ оказывает влияние множество факторов. Часть из них, относительно организма экзогенные, другие эндогенные (находятся в самом организме). Учёные геронтологи выдвигают на роль причин, механизмов старения некоторые факторы или их совокупность. Следовательно, такой процесс как старение влияет на ПЖ. Рассмотрим понятие – старение.

Необходимо отметить, что используемые для описания старения термины, довольно неточны, к тому же не существует общепринятого определения старения. К примеру, в англоязычной литературе используется два термина – *aging* и *senescence*, оба из которых на русский язык переводятся одним словом старение. Первому термину в отечественной литературе соответствует понятие нормальное или физиологическое старение, а второму паталогическое старение [1].

Итак, существуют различные определения старения, однако в какой-то мере они все ограничены, так как в них процесс искусственно

вычленяется из всей сложности его течения. По А. А. Богомольцу, старение следует рассматривать как постепенное ослабление реактивности клеток, в основе которого лежат биофизические и биохимические изменения клеточного вещества, изменение его физико-химической структуры, постепенная утрата клеткой способности к размножению и к обновлению своих биохимических структурных элементов, засорение клетки укрупненными частицами ее же собственной клеточной протоплазмы. По мнению Орди и Шейда, старение является снижением поведенческих, физиологических и биохимических приспособлений к внутренней и внешней среде. Комфорт определял старение как изменение поведения организма с возрастом, которое приводит к снижению выживания и приспособления. По Стрелеру, старение характеризуется универсальностью, эндогенностью, постепенностью и разрушительностью. В общебиологическом плане представляет старение Харьковская школа онтофизиологов. По определению Нагорного, все организмы от простейших до высших позвоночных подвергаются возрастному развитию (старению в широком смысле этого слова) и каждая система с неизбежностью как к естественному следствию приходит к его прекращению. Несмотря на существующие противоречия, большинство исследователей фиксируют внимание на основных проявлениях старения. *Старение* — неизбежно возникающий, закономерно развивающийся разрушительный процесс ограничения адаптационных возможностей организма, увеличения вероятности смерти, сокращения продолжительности жизни, способствующий развитию возрастной патологии [32].

В настоящее время актуализировалась связь понятия старения с понятием болезнь. По мнению ряда учёных, необходимо официально признать старение болезнью и выделить для него специальный код в Международной классификации болезней (МКБ). Такая точка зрения аргументируется уверенностью в том, что официальное признание

старения болезнью позволит радикально увеличить финансирование разработок новых эффективных лекарств от старости. В настоящее время прилагаются усилия включить старение в список болезней в новой версии МКБ-11, которая будет выпущена в 2018 г. Эти попытки могут оказаться успешными при их лоббировании заинтересованными фармацевтическими фирмами.

Сторона оппонентов по этому вопросу утверждает, что эта новая инициатива больше напоминает рекламно-коммерческую акцию, а не научную революцию в наших представлениях о старении. Оппоненты заявляют, что для старости уже существует специальный код в МКБ — R54. При разработке новых геропротекторов и их испытаний американские геронтологи с успехом используют термин «adult [geriatric] failure to thrive» (ICD код R62.7), что можно перевести на русский язык как «синдром психофизического увядания», или «апатия старшего возраста». Данная проблема подробно и публично обсуждалась на конгрессе Международной ассоциации геронтологов и гериатров (IAGG) в Сан-Франциско в июле 2017 г [7].

Мнение российских специалистов в данной области также не едино. А.А. Москалёв считает, что признание старения болезнью с последующими клиническими испытаниями разных подходов и их сочетаний позволит радикально продлить здоровый период жизни человека. В.М. Новосёлов говорит о неправильности приведения понятия «старения» к термину «болезнь», и тем более представить процесс старения как нозологическую единицу в МКБ. Л.А. Гаврилов и Н.С. Гаврилова согласны с мнением клинического геронтолога В.М. Новосёлова, и тоже считают, что следует приветствовать дальнейшее включение возрастзависимых заболеваний в МКБ, как это уже сделано для саркопении. А.Г. Голубев рассматривает этимологическую сторону вопроса. В.С. Мякотный соглашается с тем, что на сегодняшний момент рассмотрение процесса старения в качестве болезни неверно, однако в

будущем считает он, что это возможно и этого очень бы хотелось [7,10,18,20,21].

Вот некоторые определения вышеуказанных авторов.

Старение — это ускоряющийся с возрастом спад возможностей организма поддерживать постоянство внутренней среды, приводящий к возникновению возрастных заболеваний, которые приводят к смерти.

Старение — это слишком широкое понятие, чтобы сводить его к одной конкретной патологии. Старение существует даже в неживой природе, и оно определяется в теории надежности как процесс увеличения интенсивности отказов изучаемой системы с возрастом. В контексте теории надежности, болезни представляют собой лишь частные формы отказов системы (нездоровья). Не всякая болезнь связана со старением, но к нему имеет отношение любое прогрессирование болезни с возрастом: старение — это «созревание» болезней с возрастом.

Старение — это не болезнь, а неизвестные или малоизвестные на сегодня механизмы снижения жизнеспособности организма, тесно связанные с формированием возрастной патологии.

Старение — процесс физиологический, но никак не патофизиологический.

Вместе с тем при анализе процессов старения следует видеть и изучать не только механизмы повреждения, нарушения, ослабления, но и возникающие адаптивные сдвиги. Можно предполагать, что процесс старения в какой-то форме возник на самых ранних этапах эволюции, вместе с самим становлением первых проявлений жизни. Пробразом или конкретным выражением старения были нарушения в первичных комочках протоплазмы. Однако, несмотря на постоянство и неизбежность индивидуальной гибели, живые системы совершенствовались и развивались, достигнув в эволюции высочайшего уровня. Это стало возможным только благодаря тому, что одновременно с разрушением, с деградацией, с развитием процесса старения в эволюции и в

индивидуальном развитии возникали адаптационно-регуляторные сдвиги. Их комплекс, направленный на выживание, на увеличение продолжительности жизни, на поддержание стабильного уровня жизнеспособности можно определить, как процесс *витаукта*. По мнению Катлера, в ходе эволюции возникли процессы антистарения, способствующие увеличению продолжительности жизни. По Катлеру, старение — плейотропный процесс, т. е. оно является неизбежным итогом, побочным «продуктом» важнейших биологических процессов, направленных на повышение жизнедеятельности организма. Неразрывная связь, двуединство процессов старения и витаукта определяют ход индивидуального развития, онтогенез [32,33].

В отличие от старения, термин продолжительность жизни имеет довольно точные определения. *Продолжительность жизни* растений и животных — длительность существования особи, её онтогенеза. Различают физиологическую, экологическую и среднюю ПЖ. Физиологическая ПЖ — максимальная для особей данного вида при оптимальных условиях существования, лимитируемая т. о. лишь генетически. Экологическая ПЖ характеризует предельный возраст особей в естественных условиях и зависит от многих внешних факторов. Средняя ПЖ — возраст, которого в среднем достигают особи данной выборки, т. е. частное от деления суммы возрастов на число особей. Средняя ПЖ — переменная статистическая величина, колеблющаяся в разные моменты существования популяции. Физиологическая и экологическая ПЖ — константы в отношении соответствующего вида и популяции и практически трудно разграничиваемы; обычно говорят о максимальной видовой ПЖ, независимо от того, наблюдают ли её в искусственных или естественных условиях. У древесных растений и некоторых животных, в том числе в ископаемом состоянии, ПЖ точнее всего определяют по годичным кольцам. У растений ПЖ определяют также, сопоставляя толщину или объём ствола с ежегодным приростом, учитывая число мутовок, цвет и

строение коры, у животных – габитус, степень стирания зубов или зарастания костных швов на черепе, а также пользуясь мечением, кольцеванием и другими видами прямой регистрации [34].

Для обозначения связи двух вышерассмотренных понятий обратимся к высказыванию Бекона. Он отмечал, что в оценке долголетия и недолголетия животных наши данные скудны, наблюдения небрежны, а традиции баснословны. Во всяком случае, долголетие, очевидно, редкий феномен в животном мире. В естественных условиях обитания добыча пищи, необходимой для существования, бегство от хищника, приближение врага или добычи, смена времени года и т. д. требуют от животных значительной мышечной активности, скоростных ответов, высокой чувствительности анализаторных систем, большого диапазона реакций сердечно-сосудистой системы и др. Развитие старения, возникновение даже недалеко зашедших изменений адаптационных возможностей сказываются на скоростных реакциях, работоспособности, четкости анализа окружающей среды. Невозможность, как прежде, догнать жертву, удрать от хищника, увидеть или услышать опасность, мигрировать на большие расстояния и т. п. — это, являясь в конечном итоге проявлением возрастного снижения приспособления, делает животное безоружным, голодным, умирающим. Иными словами, образ жизни большинства животных способствует тому, что уже первые проявления старения, ограничения приспособительных возможностей становятся причиной их гибели в условиях действия окружающей среды. Труд изменил взаимоотношение человека и среды и тем самым повлиял на его ПЖ. Возрастные изменения, ранние проявления снижения адаптационных возможностей, благодаря психике человека, помощи семьи и общества перестали столь губительно влиять на человека. Все это сделало возможным долголетие человека, привело к тому, что он продолжает жить при такой степени возрастных изменений, до которых не доживают животные в естественных условиях обитания [32].

Так же мы должны понимать, что при исследовании механизмов старения ПЖ выступает самым важным отслеживаемым параметром, по изменению которого, можно судить о правильном или неправильном обозначении претендента на роль механизма.

При статистической обработке данных в исследованиях, связанных с изучением ПЖ необходимо понимать и оперировать следующими терминами: смертность и выживаемость.

Выживаемость – это вероятность пережить любой из моментов времени после некоторого начального события. Выживаемость к моменту времени t обозначим $S(t)$. Выживаемость $S(t)$ — это вероятность прожить более t с момента начала наблюдения [9].

Смертность – это отношение числа объектов, умерших в соответствующем интервале, к числу объектов, изучаемых на этом интервале [9].

1.2. Механизмы и теории старения

В данном разделе материал по механизмам и теориям старения объединён и приводится развернутое описание теорий.

Весь массив теорий можно разделить на две группы: стохастические и программированные. Теоретическая база стохастических теорий весьма убедительна: еще в середине XX в. П. Б. Медавар показал, что признак «продолжительность жизни» неподконтролен индивидуальному (дарвиновскому) естественному отбору. Он заметил, что животные в естественной среде обитания практически никогда не доживают до старости и гибнут от разных внешних причин еще в молодом возрасте. Из-за этого естественный отбор не может дифференцировать их по признаку долголетия, следовательно, не может существовать и специфических генов старения, предопределяющих естественную продолжительность жизни. Этот взгляд доминирует по настоящее время. Опыты неопровержимо свидетельствуют, что с возрастом нарастает количество повреждающих

агентов (таких как АФК) и поврежденных ими биополимеров, прогрессивно увеличивается количество функционально неполноценных биополимеров из-за стохастических ошибок в процессах редупликации, транскрипции, трансляции и процессинга. Из-за этого, как предполагается, снижается эффективность репарационных механизмов, нарушается гомеостаз обновления тканей и происходит множество других деструктивных процессов, сопровождающих старение [29].

Представление о запрограммированном характере старения, высказанное А. Вейсманом еще в конце XIX в., не находило поддержки почти столетие. Лишь в конце XX в. оно начало реанимироваться под напором эмпирических данных, неопровержимо свидетельствующих, что продолжительность жизни, как минимум частично, предопределяется генетической программой. Однако из-за отсутствия убедительного механизма запрограммированного старения эта точка зрения пока не получила широкого признания, хотя уже показано, что продолжительность жизни находится под контролем естественного отбора, и гены долголетия существуют. Сторонники этого направления ведут сейчас поиск генов долголетия практически вслепую методом проб и ошибок. Найдено множество генов, модификация которых влияет на продолжительность жизни разных организмов. В результате, сложилось представление, что процесс старения многофакторный, то есть контролируется множеством генов [29].

Сейчас в центре внимания геронтологов находится несколько теорий, которые базируются на надежно установленных процессах, реально способных привести к возрастной деградации организма: увеличение уровня АФК, снижение общего уровня синтеза белков, прекращение клеточных делений после определенного числа удвоений (лимит Хейфлика), изменение гормонального статуса организма, ослабление репарационных механизмов и др. Далее остановимся на этих теориях.

При описании теорий обозначены те исследования, которые подтверждают основные идеи авторов.

Свободнорадикальная теория старения

Свободнорадикальная теория старения, по-видимому, является наиболее широко принятой в качестве правдоподобного объяснения первичных химических реакций в основе процесса старения.

Свободнорадикальная теория старения была впервые сформулирована в пятидесятых годах Дэнхемом Харманом, который предположил один общий процесс, модифицируемый генетическими и экологическими факторами, в котором накопление эндогенных радикалов кислорода, генерируемых в клетках, могло быть причиной старения и смерти всех живых. Эта теория была пересмотрена в 1972 году, когда митохондрии были идентифицированы как структуры ответственные за начало большинства свободнорадикальных реакций, связанных со старением. Было также постулировано, что продолжительность жизни определяется скоростью повреждения свободными радикалами митохондрий [34].

Возрастающий возрастной окислительный стресс, по-видимому, является следствием дисбаланса между производством свободных радикалов и антиоксидантной защитой с более высоким производством первого. Все организмы живут в среде, содержащей активные виды кислорода. Митохондриальное дыхание, основа производства энергии у всех эукариот, генерирует реактивные кислородные породы путем утечки промежуточных продуктов из транспортной цепи электронов. Универсальный характер образующихся в организме свободных радикалов (активных форм кислорода и др.), подтверждается наличием супероксиддисмутазы во всех аэробных организмах, этот фермент ответственен за устранение супероксидных анионов кислорода. Более того, клеточный окислительный ущерб является неизбежным. Было показано, что окислительные модификации происходят в молекулах ДНК,

белка и липидов. Повышенные уровни как поврежденной окислителем ДНК, так и белка были обнаружены в престарелых организмах [8].

Однако, даже если ясно, что возрастное накопление окислительного повреждения способствует процессу старения, то для всех организмов это ещё не доказано. Увеличенная продолжительность жизни трансгенных мух, экспрессирующих супероксиддисмутазу, указывает на то, что ферменты, свободные от радикалов, достаточны для замедления старения у дрозофилы. Кроме того, мухи, выбранные для увеличения долговечности, имеют повышенные уровни супероксиддисмутазы и повышенную устойчивость к окислительному стрессу. Было также продемонстрировано, что долгоживущие мутантные черви также устойчивы к окислительному стрессу и показывают возрастающее увеличение активности супероксиддисмутазы и каталазы. Расширение продолжительности жизни в моделях *Caenorhabditis elegans* с использованием синтетических молекул, имитирующих каталазу и / или супероксиддисмутазу, демонстрирует, что антиоксидантные соединения могут играть важную роль в замедлении старения [3].

Свободнорадикальная теория старения делится на несколько гипотез, посвященных исключительной роли отдельных органелл и типов поврежденных молекул в процессе старения. Например, было высказано предположение, что мутации в митохондриальной ДНК ускоряют повреждение от свободных радикалов путем введения измененных компонентов ферментов в цепь переноса электронов. Негативный перенос электронов, следовательно, приводит к повышенной утечке свободных радикалов и, в конечном счете, к большему мутированию митохондриальной ДНК и усугублению производства окислителя. Этот «порочный круг» мутаций и производства окислителя может в конечном итоге привести к клеточной / органной недостаточности и старению. Другая гипотеза утверждает, что свободные радикалы вызывают старение из-за накопления окисленных белков в клетках. Возрастающее снижение

способности деградации окисленных белков может зависеть от нарастания поврежденных дисфункциональных молекул в клетке. Было высказано предположение, что окислительный ущерб может быть важным источником соматических мутаций в основе так называемой «теории соматических мутаций старения». Эта теория предполагает, что накопление генетических мутаций в соматических клетках является специфической причиной старения [33,17].

Идентификация свободнорадикальных реакций в качестве промоторов процесса старения предполагает, что вмешательства, направленные на ограничение или ингибирование их, должны быть способны снижать скорость образования изменений присущих старению с последующим снижением скорости старения и патогенеза болезни. Был описан идеальный «золотой треугольник» окислительного баланса, в котором окислители, антиоксиданты и биомолекулы размещены на каждой вершине. В нормальной ситуации между этими тремя элементами существует сбалансированное равновесие. Избыточная генерация свободных радикалов может подавлять естественную клеточную антиоксидантную защиту, ведущую к перекисному окислению липидов, и еще больше способствует повреждению мышц.

Теория репликативного старения

Профессором анатомии Калифорнийского университета Л. Хейфликом в 1961 г. было установлено, что эпителиальные клетки человека обладают пределом деления *in vitro* — не более 50-ти раз. Им констатировано, что даже в идеальных условиях культивирования фибробласты эмбриона человека способны делиться только ограниченное число раз (50 ± 10). Последняя фаза жизни клеток в культуре была отождествлена клеточному старению, а сам феномен именуется в честь открывателя «предел Хейфлика» [1].

Сам Хейфлик не дал объяснение этого явления, но продолжил развивать свою теорию клеточного старения.

Теломерная теория

В 1971 г. научным сотрудником Института биохимической физики РАН А. М. Оловниковым, была предложена гипотеза, объяснившая предел деления клетки. Анализируя экспериментальные данные Л. Хейфлика, автор выдвинул теорию маргинотомии (от латинского слова *margo* — край и греческого слова «*αλοκοπή*» — отсечение). Основным предметом изучения этой теории явилась способность клеток помнить о лимите удвоений ДНК. Еще в 1966 г. А. М. Оловников пришел к заключению, что ДНК-полимераза при каждом делении клеток начинает копировать цепочку ДНК не с самого начала и заканчивает не на самом конце хромосомы. При этом остаются недокопированные концевые фрагменты теломерной ДНК, которая состоит из коротких консервативных тандемных повторов. Недорепликация приводит к укорочению реплики по сравнению с матрицей. Следовательно, при каждом клеточном делении хромосомы немного сокращаются, теломеры становятся короче и в какой-то момент настолько, что клетка уже не может делиться и теряет жизнеспособность — именно в этом и состоит старение клеток. То есть при исчерпании защитной функции теломер при каждом следующем копировании «информационная часть» ДНК должна была бы пострадать, а клетки постареть. Данный процесс был положен в основу теломерной теории.

Теория предполагала, что «нестарение» бактерий обусловлено кольцевой формой ДНК, а теломерные последовательности в половых, стволовых и раковых клетках защищены от недокопирования особой формой ДНК-полимеразы. Открытие этого фермента — теломеразы (экспериментальные работы Э. Блекберн, 1985 г.), достраивающего укороченные теломеры в половых и опухолевых клетках, стало подтверждением теории Оловникова [1].

Однако сам автор в дальнейшем отказался от собственной теории старения. Причина этого проста: все предсказания теории получили подтверждение кроме одного, для автора самого главного: укорочение

теломер, действительно, коррелирует с числом пройденных клеточных делений и старением клеток, но не является причиной самого старения, как такового. Взамен ученый предложил редусомную теорию, описывающую укорочение структур (хрономер и принтомер) в «латеральной ДНК». Согласно последним публикациям Оловникова (в 2004 и 2007 гг.) основным регулятором данного укорочения являются гравитационные лунные ритмы [1].

Элевационная теория старения

Нейроэндокринная теория старения была впервые описана в 1954 году в магистерской диссертации выдающегося русского геронтолога Владимира Дильмана.

Теория Дилмана, по существу, состоит в том, что старение обусловлено прежде всего постепенной потерей чувствительности рецептора гипоталамуса (и связанных с ним структур в мозге) к ингибированию отрицательной обратной связи. Хотя эта потеря чувствительности необходима для нормального роста и развития, это также является причиной заболеваний, вызванных созреванием, старения и смерти.

Нейроэндокринная теория объясняет причину основных заболеваний старения, которые способствуют более 85% случаев смерти и инвалидности лиц среднего и пожилого возраста. Эти заболевания включают: ожирение, атеросклероз, гипертонию, диабет, рак, аутоиммунные нарушения, метаболическую иммунодепрессию и гипердаптоз. Два других заболевания - депрессия и менопауза - хотя и не смертельные, также происходят регулярно с возрастом. (Менопауза включена Дилманом как болезнь, потому что он описывает болезнь как «любое постоянное нарушение внутреннего постоянства») [17].

Если бы наши тела могли оставаться в идеальном гомеостазе с рождения, дальнейшего роста и развития не было бы. Дилман считал, что

сдвиг чувствительности к гипоталамусу к отрицательной обратной связи является механизмом, позволяющим развиваться и развиваться.

Тем не менее, это также основной механизм старения и болезни старения. Например, у младенца образуются только мельчайшие количества тестостерона. Если бы наши тела действительно поддерживали состояние гомеостаза, даже это небольшое количество гормона было бы адекватным, чтобы предотвратить гипоталамус и гипофиз от производства большего количества стимулирующих тестостерон высвобождающих факторов и гормонов [33].

Если бы это было так (не только с тестостероном, но и со всеми гормонами), рост и развитие никогда не произойдут, и мы останемся младенцами на протяжении всей нашей жизни. Таким образом, в течение всего детства и полового созревания происходит постоянное изменение гомеостаза, приводящее к росту и развитию.

Проблема в том, что как только мы достигли совершеннолетия, нет механизма, чтобы отключить эту прогрессирующую потерю гипоталамической чувствительности к ингибированию обратной связи. Таким образом, гомеостатический баланс, который, как представляется, достигает своего оптимального значения в возрасте от 20 до 25 лет, продолжает изменяться, что приводит к увеличению (то есть кортизола, инсулина) или менее оптимального (то есть уровня эстрогена, тестостерона) многих гормонов и, в конечном счете, истощение периферических эндокринных желез из-за их длительных усилий по преодолению потери чувствительности к гипоталамусу [8].

Что вызывает потерю чувствительности рецептора с возрастом? Это неизвестно наверняка, но Дилман определил следующие возможные факторы: Снижение уровня нейротрансмиттеров гипоталамуса (в частности, катехоламины и серотонин); Снижение количества рецепторов гипоталамических гормонов (что может быть вызвано частично падением концентраций биогенных аминов); Снижение секреции гормонов

шишковидной железы (мелатонин и шишковидные полипептидные гормоны); Накопление жира; снижение использования глюкозы; Накопление нейронных повреждений, вызванных хронически повышенными уровнями кортизола из-за длительного стресса; Накопление холестерина в плазматических мембранах нейронов.

Дилман считал, что три гомеостатические системы (которые он обозначил «гомеостаты»), участвующие в росте, развитии и старении: Адаптивная (гипоталамо-гипофизарно-надпочечная ось); Репродуктивная (гипоталамо-гипофизарно-гонадальная ось); Горизонтаты энергии (гипоталамо-гипофизарно-щитовидная ось).

Современные учёные полагают, что к этим трём следует добавить еще один гомеостат - гомеостат иммунный (шишковидно-гипоталамо-гипофизарно-тимуса).

Это расстройство или изменение в функционировании этих гомеостатов, которое вызывает метаболические изменения, которые характеризуют старение и болезни старения. Дилман интуитивно определил, что все болезни старения характеризуются сходными метаболическими изменениями. Наиболее распространенными из этих изменений являются снижение толерантности к глюкозе, гиперинсулинемия и гиперлипидемия [4,8].

Теория Дильмана дает смелую новую теоретическую основу для самого процесса старения, а также конкретные, клинически протестированные протоколы для лечения и профилактики заболеваний старения. Красота этой теории заключается в том, что она не противоречит другим, более установленным теориям старения и не является взаимоисключающей. Скорее, он либо включает, либо дополняет другие теории.

Теория расходуемой сомы

Британский биолог Томас Кирквуд впервые предложил теорию одноразовой сомы в статье обзора природы 1977 года. Автор был

вдохновлена теорией старения Лесли Оргеля «теория катастрофы ошибок», которая была опубликована четырнадцатью годами ранее, в 1963 году. Оргель полагал, что процесс старения возник из-за мутаций, приобретенных во время процесса репликации, а Кирквуд разработал теорию одноразовой сомы для того, чтобы стать посредником в работе Оргеля с эволюционной генетикой.

Одноразовая теория сомы старения действует исходя из предпосылки, что существует компромисс между распределением ресурсов между соматическим обслуживанием и репродуктивными инвестициями. Слишком низкая инвестиция в саморемонт будет эволюционно необоснованной, так как организм, скорее всего, умрет до репродуктивного возраста. Однако слишком высокие инвестиции в саморемонт также будут эволюционно необоснованными из-за того, что его потомство, скорее всего, умрет до репродуктивного возраста. Следовательно, есть компромисс, и ресурсы распределяются соответственно. Однако считается, что этот компромисс повреждает соматические системы ремонта, что может привести к прогрессирующим клеточным повреждениям и старению. Расходы на ремонт могут быть разделены на три группы: затраты на увеличенную долговечность невозобновляемых деталей; затраты на обслуживание, связанные с обновлением клеток, и затраты на внутриклеточное обслуживание. В двух словах, старение и снижение, по сути, являются компромиссом для повышения репродуктивной устойчивости молодежи [34].

Было проведено много исследований по антагонистическому эффекту увеличения роста продолжительности жизни. Конкретно, гормон-инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) связывается с рецептором клетки, что приводит к каскаду фосфорилирования. Этот каскад приводит к киназам, фосфорилирующим фактор транскрипции FOXO, дезактивируя его. Дезактивация FOXO приводит к невозможности экспрессии генов, участвующих в ответе на реакцию окислительного стресса, таких как

антиоксиданты, шапероны и белки теплового шока. Кроме того, поглощение IGF-1 стимулирует mTOR-путь, который активирует синтез белка (и, следовательно, рост) посредством повышения активности промотирующего транскрипцию S6K1, а также ингибирует аутофагию, процесс, необходимый для рециркуляции поврежденных клеточных продуктов. Снижение аутофагии вызывает нейродегенерацию, агрегацию белка и преждевременное старение. Наконец, исследования также показали, что путь mTOR также изменяет иммунные ответы и стимулирует ингибиторы циклинзависимой киназы (CDK), такие как p16 и p21. Это приводит к изменению ниши стволовых клеток и приводит к истощению стволовых клеток, другому теоретизированному механизму старения [19,22].

Механизм того, почему размножение тормозит продолжительность жизни в отношении многоклеточных организмов, пока неясен. Хотя многие модели иллюстрируют обратную связь, и теория имеет смысл с эволюционной точки зрения, клеточные механизмы еще предстоит изучить. Однако в отношении клеточной репликации прогрессивное укорочение теломер является механизмом, который ограничивает количество поколений одной клетки. Кроме того, в одноклеточных организмах, таких как *Saccharomyces cerevisiae*, образование внехромосомных rDNA кругов (ERC) в материнских клетках (но не дочерних клетках) при каждом последующем делении является идентифицируемым типом повреждения ДНК, связанным с репликацией. Эти ERC накапливаются со временем и, в конечном итоге, вызывают репликативное старение и смерть материнской клетки [17].

Существует большое количество данных, свидетельствующих о негативном влиянии роста на долголетие у многих видов. Как правило, лица меньшего размера обычно живут дольше, чем более крупные особи одного и того же вида.

Многочисленные исследования показали, что продолжительность жизни обратно коррелирует как с общим количеством потомства, так и с возрастом, в котором женщины впервые рожают, также известными как примитивность. Кроме того, было обнаружено, что репродукция является дорогостоящим механизмом, который изменяет метаболизм жира. Липиды, вложенные в размножение, не могут быть выделены для поддержки механизмов, участвующих в соматическом обслуживании.

Одной из основных недостатков теории одноразовой сомы является то, что она не постулирует какие-либо конкретные клеточные механизмы, по которым организм переключает энергию на соматический ремонт или на размножение. Вместо этого он предлагает только эволюционную перспективу, почему старение может возникать из-за размножения. Поэтому её части довольно ограничены вне области эволюционной биологии.

Объединённая теория старения

А.Г. Трубицын, автор данной теории, выдвигает на роль механизма старения генетически контролируемое снижение уровня биоэнергетики при каждом делении клетки. Автор аргументирует зависимость от уровня энергетики таких признаков, как: увеличение уровня АФК, снижение уровня синтеза белка и репарации ДНК при старении, невозможность бесконечного деления клеток. А также связывает возрастное снижение биоэнергетики с часами старения и с эффектом увеличения продолжительности жизни при низкокалорийной диете.

В логике данной теории уровень биоэнергетики – это величина изменения энергии Гиббса для данной системы, она в свою очередь зависит от соотношения концентраций восстановленных и окисленных форм макроэргических соединений клетки и температуры. Биоэнергетической машиной, дающей определённый уровень энергии, выступают митохондрии.

Возрастное увеличение уровня АФК и сопутствующего уровня повреждений структур клетки в рамках теории объясняется следующим. Образующийся при работе дыхательной цепи супероксид модифицируется митохондриальной супероксиддисмутазой в перекись водорода. Далее она разлагается системами глутатиона и тиоредоксина, которые энергозависимы, или разлагается по реакции Фентона, которая не требует энергии от митохондрий. При возрастном затухании биоэнергетики разложение по энергозависимым путям идёт в меньшей степени, а по реакции Фентона наоборот, протекает активнее. Это дает увеличение количества вторичных свободных радикалов, т.к. они являются побочными продуктами реакции Фентона, и соответственно увеличение ущерба структур клетки [29].

Такой вредоносный процесс, как снижение уровня синтеза белков при старении, также зависит от энергетического потенциала, генерируемого биоэнергетической машиной (соотношение АТФ/АДФ). Скорость регулирующей стадией трансляции является инициация. Для её начала необходим комплекс фактора инициации с гуанозинтрифосфатом (eIF2·GTP). Данный комплекс, после прохождения ряда реакций, должен быть преобразован в исходную форму и вступить в новый цикл инициации. Для этого необходимо поддержание оптимального уровня гуанозинтрифосфата, а его концентрация зависит от уровня аденизинтрифосфата [29].

Запрограммированное снижение уровня биоэнергетики с возрастом неизбежно вызовет снижение эффективности репарации. Ключевую роль в восстановлении поврежденных структур ДНК играет эксцизионная репарация, при которой происходит распознавание поврежденных участков, их вырезание на одной из цепей с последующей комплементарной застройкой образовавшихся пробелов. Этот процесс, происходящий по принципу «вырежь-и-латай» (cut-and-patch), многоэтапный и катализируется большой группой ферментов, причем

каждый этап требует энергетических затрат в форме окисления *АТФ*. Как уже упоминалось, активность любой энергозависимой химической реакции зависит от энергообеспечения [30].

Кратко и несколько утрировано суммировав доводы автора по остановке пролиферации старых клеток, получается следующее: прохождению точки рестрикции препятствует ингибитор циклинзависимых киназ (р27). В клетке существует специальный насос по его откачке. Эффективность его работы зависит от энергообеспечения. При запрограммированном снижении клеточной биоэнергетики ниже определенного порогового уровня он перестает откачивать ингибитор, и деления клеток становятся невозможными [30].

В отношении часов старения А.Г. Трубицын рассуждает следующим образом: генетическая программа переключает уровень биоэнергетики клетки на новое более низкое значение в процессе каждого очередного деления. Следовательно, длительность жизни клеток отсчитывается пролиферативными часами – ход времени предопределяется скоростью делений, а исполнительный механизм (механизм старения) суммирует результаты событий, снижая уровень биоэнергетики после каждого удвоения. Таким образом, часы старения отсчитывают количество прошедших делений, а не календарное время. Эти часы задают скорость деградации организма, а, следовательно, и долголетие. Так же автор указывает, что эволюционно необходимое изменение продолжительности жизни согласно пролиферативным часам старения, может достигаться изменением исходной величины биоэнергетики и/или величины ее снижения при каждом делении клеток.

Параметаболическая теория старения (ПМТ)

Автор данной теории Голубев А.Г. Эта теория является по сути самой не обнадёживающей, в смысле увеличения максимальной продолжительности жизни человека.

Механизмом старения в данной теории выступает параметаболические процессы. Продукты последних накапливаются в организмах вызывая ущерб структурам клеток, который с течением времени становится всё более заметным.

Биологические системы содержат молекулы веществ, обладающие большим спектром химических свойств, часть из них используются в биологических функциях, а неиспользуемые потенции могут быть вредны не только своей бесполезностью, но и причинять прямой ущерб. Нужные потенции используются оптимальным образом в ферментативных реакциях, тогда как ненужные не катализируются ферментами, но никуда не деваются и обычно сопровождают ферментативные метаболические процессы. Такие неферментативные процессы называются параметаболические.

Многие реакции такого рода хорошо известны в органической химии и настолько типичны, что стали именными: присоединение Михаэля, реакция Пикте – Шпенглера, реакция Манниха и др. Подобные реакции происходят в мягких условиях, и при наличии исходных веществ они неизбежны. А веществ таких в живой клетке великое множество [16].

Кислород и его активные формы представляют собой самые известные и, по крайней мере, для аэробных форм жизни, самые важные примеры параметаболических явлений. Но кислород в этом смысле не уникален. Вода гидролизует нуклеиновые кислоты. Метилглиоксаль, параметаболический продукт гликолиза, образуется и может повреждать макромолекулы безо всякого участия кислорода. Многочисленные примеры такого рода расценены как основа антагонистических плейотропных эффектов генов. В этом смысле, практически нет генов, которые лишены таких эффектов; они есть даже у тех, которые абсолютно необходимы для жизнеспособности. Например, любой ген, кодирующий фермент, участвующий в образовании глицеральдегид-3-фосфата в гликолизе или еще каком-либо процессе, имеет антагонистические

плейотропные эффекты, реализующиеся через параметаболическое образование метилглиоксаля из глицеральдегид-3-фосфата. Ближе к генам, в смысле механизмов реализации, находятся антагонистические плейотропные эффекты, являющиеся результатом склонности их белковых продуктов к агрегации, особенно в форме амилоидных фибрилл [13]. Эта склонность более всего выражена в продуктах генов, функции которых связаны с гидрофобными взаимодействиями, например, со встраиванием в мембраны (APP – amyloid precursor protein, белок-предшественник амилоидогенных пептидов, принимающих участие в патогенезе болезни Альцгеймера), с переносом липидов (аполипопротеины), тироксина (транстиретин) [12].

Получается, что любая биохимическая система содержит возможности для взаимодействий, которые не контролируются средствами этой системы. Эти взаимодействия лежат в основе антагонистических плейотропных эффектов генов и создают движущую силу старения. Добавление новых средств их контроля создает возможности для новых неконтролируемых взаимодействий. Здесь можно усмотреть соответствие с теоремой Геделя о неполноте, являющейся краеугольным камнем современных оснований математики и, похоже, вообще естествознания. Согласно этой теореме, любая система постулатов и способов построения взаимосвязей между ними (в данном случае это метафора для системы взаимодействующих молекул) является неполной в том смысле, что содержит возможности для формулирования утверждений, которые невозможно ни доказать, ни опровергнуть (невозможно контролировать) средствами этой системы, а добавление новых постулатов (средств контроля) с целью доказать прежде недоказуемые утверждения создает возможности для формулирования новых недоказуемых утверждений (неконтролируемых взаимодействий). В этом смысле старение является результатом справедливости теоремы Геделя на примере системы биохимических взаимодействий. Это не только ограничивает возможность

контролировать образование параметаболических продуктов, но также создает источник неконтролируемых флюктуаций внутренней среды, способных в крайних случаях уничтожить всю систему. Поэтому внутренняя среда организма может представлять для организма опасность не меньшей важности, чем внешняя среда, а набор биологических функций включает те, которые, с одной стороны, защищают живые системы от внутренних опасностей, а с другой – создают дополнительные проблемы.

Автор теории предлагает обобщённую форму закона Гомпертца–Мэйкхема (ОГМ), которая интерпретирована как закон зависимости смертности не от возраста, а от жизнеспособности. Предполагается, что ОГМ является результатом того, что процесс возникновения жизни из химического мира сопровождался тем, что в уравнении Аррениуса, описывающем зависимость скорости распада молекул от температуры, роль основной переменной при переходе от молекул к пребиотическим мультимолекулярным конгломератам перешла от температуры к активационному барьеру. Таким образом, ОГМ является не результатом биологической эволюции, а своего рода химическим наследием биологии и одним из условий, в которых действовала биологическая эволюция. Моделирование на таких основаниях показывает, что эволюционное приобретение новых функций, сопряженное с ускоренным снижением функциональных способностей из-за накопления параметаболических повреждений, вызываемых этими функциями, может повышать эффективность вложения ресурсов в потомство. Несмотря на снижение продолжительности существования когорт и даже сокращение репродуктивного периода организмов, и, таким образом, может находиться под положительным давлением естественного отбора [11].

С позиций ПМТ, полностью совладать с параметаболическими повреждениями можно ростом и/или делением клеток и/или их удержанием на низком стационарном уровне полным самообновлением, причем оба эти способа несовместимы с рядом высших физиологических

функций. Тот факт, что у кишечнорастворимого животного обыкновенной речной гидры не найдено никаких проявлений старения, можно объяснить способностью таких организмов к полному самообновлению (что лишает их возможности иметь некоторые полезные приспособления, такие как скелет или мозг). В противном случае, необновляемые компоненты накапливали бы параметаболические продукты и становились бы все менее пригодными к оптимальному функционированию.

Обсуждая и подчеркивая различия ПМТ с концепцией антагонистической плейотропии, теорией накопления вредных мутаций с отсроченным действием, теорией расходной сомы и др., автор заключает, что ПМТ создает концептуальную основу для очень важных, но, в сущности, дескриптивных теорий старения, которые сфокусированы на источниках эндогенных повреждений (например, свободнорадикальная теория) или на накопителях этих повреждений (соматические мутации в ДНК, сшивки в белках внеклеточного матрикса и т.д.). Каждая такая теория относится к частному механизму, а не к общей причине старения. Движущая сила старения возникла бы, даже если бы не было никаких контактов живых организмов с кислородом и даже если бы вообще не было такого явления, как свободные радикалы.

Из ПМТ следует, что основная часть того, что лежит в основе антагонистической плейотропии и составляет движущую силу старения, возникла в эволюции очень рано, когда эта сила могла рассеиваться клеточным делением и, таким образом, не причинять особого вреда и не элиминироваться отбором. Поэтому эта движущая сила заложена в метаболических взаимодействиях столь глубоко, что ее непросто модифицировать и продемонстрировать путем модификаций. Глубина ее залегания меньше у более примитивных организмов, например, нематод. И действительно, известные модификации паттернов выживаемости этих организмов включают такие, где явно происходят изменения скорости старения. Эта глубина больше у более развитых организмов, таких как

люди. В рамках ПМТ найти способ повлиять на исходную причину старения сложившегося вида *Homo sapiens* звучит гораздо менее оптимистично, чем в воззрениях, усматривающих возможность обратимости старения или запрограммированности старения человека.

1.3. Видовые различия в продолжительности жизни

Проблема межвидовых различий в ПЖ занимает особое место. Углублению знаний о биологических основах ПЖ способствует понимание причин больших различий в ней у разных видов, понимание эволюционных изменений этого признака. Межвидовые различия в ПЖ являются проблемой и ключом к решению целого ряда вопросов геронтологии. Сопоставление длительности жизни особей вида с другими видовыми признаками – подход к выяснению биологических основ ПЖ.

Из-за значительной величины различий в сроках жизни особей разных видов, точному измерению их не придавалось решающего значения долгое время. Сравнивая между собой дрозофилу, крысу и человека видно, что какой бы показатель их ПЖ не использовался, результат принципиально не изменится: меньше всех живет дрозофила (месяцы), больше крыса (годы), и самое большее человек (десятки лет). Результаты сопоставления принципиально не изменяются, если использовать ранги, а не числа. В настоящее время, сопоставление ПЖ видов ведется с большой точностью, а мера продолжительности жизни вида отсутствует [6,3].

Для сторонников гипотезы видового предела ситуация решается несколькими способами. Можно постулировать существование особого возраста и наделить его желаемыми свойствами. Максимальная продолжительность жизни, подходит на эту роль. Недостаток надежных статистических данных для предельно старших возрастов способствовал утверждению представления о существовании очевидного биологического предела продолжительности жизни, который в случае человека остаётся неизменным для всех времен, рас и цивилизаций. Это утверждение

существует при полном отсутствии сколь либо убедительных доказательств [6,8].

Использование данной меры связано со многими противоречиями. Как убедиться в исторической неизменности максимальной продолжительности жизни, если ее величина до сих пор неизвестна? Значительное расхождение мнений специалистов в оценках видового предела продолжительности жизни указывает на субъективность первых. Точность приводимых оценок неизвестна, что, в частности, проявляется в отсутствии обоснованных доверительных интервалов. Некоторые эксперты из осторожности приводят не значение видовой продолжительности жизни, а предполагаемый диапазон, в котором, по их мнению, находится эта величина, однако эти приблизительные оценки довольно слабо перекрываются [6,34].

Приведенные противоречия касаются в основном оценки видовой продолжительности жизни человека. Относительно других биологических видов разногласий не так много, в связи с меньшим числом исследователей, считающих себя экспертами в данной области.

В данной логике всё сводится к регистрации достоверно установленных случаев долгожительства. Научная проблема приобретает привкус спортивной хроники рекордов. Согласно последним сообщениям, видовой предел продолжительности жизни человека составляет 120 лет и 237 дней, но не исключено, что рекорд будет побит в дальнейшем. При обсуждении данных видовой продолжительности жизни других организмов ее анализ нередко скатывается до уровня охотничьих рассказов. На основании подобных результатов трудно рассчитывать на выяснение биологических основ продолжительности жизни [6,8].

Другой способ заключается в использовании методов статистики экстремальных значений. Регистрируется не максимальная, а наибольшая характеристическая продолжительность жизни, которая равна возрасту последнего организма, оставшегося в живых из выборки известного

размера. Важно учитывать, что величина наибольшей характеристической продолжительности жизни растёт с увеличением числа наблюдений, причем этот рост может быть не ограничен сверху. Поправки на число наблюдений никто не проводит. В связи с этим, для человека при огромной численности населения Земли и длительной регистрации случаев долгожительства величина наибольшей характеристической продолжительности жизни будет значительно превышать соответствующую оценку для вида с той же долговечностью, но представленного много меньшим количеством особей в зоопарке. Факт выпадения из общей зависимости большинства межвидовых корреляций данных по человеку (человек живет дольше, чем это следовало бы ожидать на основании его анатомических, физиологических и биохимических характеристик) может быть связан с различиями в числе наблюдений.

Получается, максимальная продолжительность жизни – хорошая оценка величины верхнего предела ПЖ вида. При условии реального существования абсолютного предела ПЖ видов и достаточно большом числе наблюдений [6].

Альтернативный путь решения проблемы определения меры для характеристики видовой ПЖ заключается в поиске инвариант. Величина видовой ПЖ должна быть инвариантна для всех представителей вида.

Временные инварианты ПЖ вида, такие как предэкспоненциальный множитель R и показатель экспоненты α сопоставляются для разных популяций одного вида. Это даёт возможность усмотреть более общие для конкретного вида инварианты. Последние стабильны в генетическом и средовом аспектах [6].

Разумность исследования в этом направлении подтверждается открытием таких моделей старения, как корреляция Стрелера-Милдвана и компенсаторный эффект смертности и другие [1,8].

В завершении данного раздела приведём надёжные и должным образом зафиксированные примеры долгожительства в животном мире.

Приводить спорные, мало подтверждённые сводные таблицы по видовым различиям ПЖ животных не будем.

Крупные попугаи представители рода Ара и семейства Какаду могут жить до 80-100 лет в неволе. Возраст некоторых галапагосских черепах достигает 190 лет. Отдельные представители китов-носорогов имели возраст от 177 до 245 лет. Гренландские акулы в настоящее время являются видом позвоночных с самой длинной известной продолжительностью жизни. В исследовании, опубликованном в 2016 году изучено 28 экземпляров этого вида. При этом использовалось радиоуглеродное датирование, которое показало, что самое старое из животных, прожило около 392 ± 120 лет (как минимум 272 года и максимум 512 лет). Далее авторы пришли к выводу, что вид достигает половой зрелости в возрасте около 150 лет. Беспозвоночные виды, которые продолжают расти до тех пор, пока они живут (например, некоторые моллюски, некоторые виды кораллов), могут иногда прожить сотни лет: двустворчатый моллюск «Мин», жил 507 ± 2 года. Определённые виды считаются биологически бессмертными и не имеют максимальной продолжительности жизни. Ряд видов медуз, в том числе *Turritopsis dohrnii*, *Laodicea undulata* и *Aurelia aurita* могут вернуться к стадии полипа даже после воспроизведения (так называемый разворот жизненного цикла) и не умирать, как другие медузы. Не может быть естественного предела продолжительности жизни Гидр, но пока не ясно, как оценить возраст образца. Плоские черви, как известно, почти бессмертны, поскольку они имеют большой потенциал регенерации, непрерывный рост и бинарное деление типа клеточного. Самый долгоживущий человек, чьи даты рождения и смерти были подтверждены современными нормами мировых рекордов Гиннеса и Исследовательской группой Геронтологии, была Жанна Калмент (1875-1997), французская женщина, которая прожила до 122 лет.

ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ

2.1. Антиоксиданты и их роль в процессе старения

Колоссальное разнообразие физических и химических факторов способны влиять на ПЖ животных. В данной работе необходимо рассмотреть из химических факторов группу под названием геропротекторы, из физических факторов – температуру.

Основоположником научной геронтологии Илья Мечников, впервые использовал термин геропротектор. Дословный перевод геропротектора — это защита от старения. Исходя из первоначального определения, основным критерием геропротектора является способность увеличивать продолжительность жизни модельных организмов.

Владимир Анисимов разделяет геропротекторы на две группы в соответствии с предложенным механизмом их геропротекторного действия: препараты, которые предотвращают случайный ущерб макромолекулам; препараты или факторы, замедляющие реализацию генетической программы старения и формирование возрастных патологий. Он также выделил несколько типов геропротекторов, использующих наиболее известные теории. В рамках данной работы необходимо остановиться на антиоксидантах [1,2].

Антиоксиданты (также антиокислители, консерванты) — вещества, которые ингибируют окисление; любое из многочисленных химических веществ, в том числе естественные продукты деятельности организма и питательные вещества, поступающие с пищей, которые могут нейтрализовать окислительное действие свободных радикалов и других

веществ. Рассматриваются преимущественно в контексте окисления органических соединений.

Антиоксиданты бывают ферментативной природы (ферменты, синтезируемые эукариотическими и прокариотическими клетками) и неферментные. Самыми известными антиоксидантными ферментами (АОФ) являются белки-катализаторы: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и пероксидазы. АОФ являются важнейшей (внутренней) частью антиоксидантной системы организма. Благодаря АОФ каждая клетка в норме способна уничтожать избыток свободных радикалов, однако при переизбытке необезвреженных свободных радикалов, существенную роль в защите организма от окислительного стресса играет внешняя часть антиоксидантной системы — антиоксиданты, получаемые с пищей.

Наиболее известные неферментные антиоксиданты: аскорбиновая кислота (витамин С), токоферол (витамин Е), β-каротин (провитамин А) и ликопин (в томатах). К ним также относят полифенолы: флавин и флавоноиды (часто встречаются в овощах), танины (в какао, кофе, чае), антоцианы (в красных ягодах).

Антиоксиданты делятся на два больших подкласса в зависимости от того, являются ли они растворимыми в воде (гидрофильные) или в липидах (липофильный). В общем, водорастворимые антиоксиданты окисляются в цитозоле клетки и плазме крови, в то время как липидорастворимые антиоксиданты защищают клеточные мембраны от перекисного окисления липидов. Антиоксиданты могут быть синтезированы в организме или поступать из рациона. Различные антиоксиданты присутствуют в широком диапазоне концентраций в жидкостях и тканях организма, при этом некоторые (глутатион или убихинон) в основном присутствуют внутри клеток, тогда как другие (мочевая кислота) распределены более равномерно. Некоторые антиоксиданты можно найти только в отдельных организмах, эти соединения могут иметь важное значение в патогенезе и факторах вирулентности микроорганизмов.

Окисление углеводов, спиртов, кислот, жиров и других веществ свободным кислородом представляет собой цепной процесс. Цепные реакции превращений осуществляются с участием активных свободных радикалов — пероксидных (RO_2^*), алкоксильных (RO^*), алкильных (R^*), а также активных форм кислорода (супероксид-анион, синглетный кислород). Для цепных разветвлённых реакций окисления характерно увеличение скорости в ходе превращения (автокатализ). Это связано с образованием свободных радикалов при распаде промежуточных продуктов — гидроперекисей и другие [2,14].

Механизм действия наиболее распространённых антиоксидантов (ароматические амины, фенолы, нафтолы и др.) состоит в обрыве реакционных цепей: молекулы антиоксиданта взаимодействуют с активными радикалами с образованием малоактивных радикалов. Окисление замедляется также в присутствии веществ, разрушающих гидроперекиси (диалкилсульфиды и др.). В этом случае падает скорость образования свободных радикалов. Даже в небольшом количестве (0,01—0,001 %) антиоксиданты уменьшают скорость окисления, поэтому в течение некоторого периода времени (период торможения, индукции) продукты окисления не обнаруживаются. В практике торможения окислительных процессов большое значение имеет явление синергизма — взаимного усиления эффективности антиоксидантов в смеси, либо в присутствии других веществ.

Процессы перекисного окисления липидов постоянно происходят в организме и имеют важное значение для обновления состава и поддержания функциональных свойств биомембран, энергетических процессов, клеточного деления, синтеза биологически активных веществ, внутриклеточной сигнализации [14,31].

Поскольку регулярный приём свежей растительной пищи уменьшает вероятность возникновения сердечнососудистых и ряда неврологических заболеваний, была сформулирована и широко растиражирована

средствами массовой информации рабочая гипотеза о том, что антиоксиданты могут предотвратить разрушающее действие свободных радикалов на клетки живых организмов, и тем самым замедлить процесс их старения [14,31].

Многочисленные научные исследования пока не подтвердили этой гипотезы. Опубликованы широкомасштабные исследования, которые указывают на то, что пищевые добавки с антиоксидантами, наоборот, могут быть опасны для здоровья. Мета-анализ клинических исследований, в которых участвовали более 240 тысяч человек в возрасте от 18 до 103 лет (44,6 % женщин), показал, что бета-каротин и витамин Е в дозах, превышающих рекомендуемую дневную норму, значительно повышает общую смертность. Новейшие данные позволяют предположить, что благотворное воздействие свежей растительной пищи на здоровье вызвано иными соединениями и факторами, нежели антиоксиданты [2].

2.2. Свойства диоксида серы, как газотрансмиттера и его возможная роль в увеличении продолжительности жизни

Газотрансмиттеры (газовые медиаторы) – это эндогенно синтезируемые молекулы газов, выполняющие сигнальную функцию. К ним относятся монооксид азота и взаимодействующие с ним активные формы кислорода, монооксид углерода и сероводород. Недавно открыт ещё один газовый медиатор – диоксид серы. Затем к газотрансмиттерам были отнесены также полисульфиды. Кандидатами в газотрансмиттеры некоторые авторы считают аммиак, ацетальдегид, углекислый газ и метан.

В отличие от обычных трансммиттеров (нейромедиаторов) они являются малыми молекулами, легко преодолевают биологические мембраны и не действуют через специальные рецепторы. Газотрансмиттеры синтезируются в организме при помощи специальных ферментов и являются лабильными (период их полужизни измеряется в секундах). Они, как правило, не накапливаются в нативной форме, так как не могут быть заключены в везикулы и при образовании нуждаются в

синтезе из исходных веществ. Иногда их могут связывать металлы белков и ферментов, а также сульфгидрильные группы, входящие в состав аминокислот, биофенолы, например, тирозин, свободный или входящий в состав белков и т. д. Газотрансмиттеры выполняют в организме важные клеточные функции. Они обладают эндокринными, паракринными, аутокринными и интракринными эффектами. Однако до открытия их эндогенной продукции были известны лишь как токсические вещества. Газовые медиаторы составляют единый комплекс веществ и являются новым видом биорегуляторов [15].

Диоксид серы как сигнальная молекула (газотрансмиттер) открыт недавно. Сернистый ангидрид является бесцветным газом с едким раздражающим запахом. Этот газ долгое время был известен лишь как загрязнитель внешней среды, обладающий токсическим действием, которое включает окислительный эффект, повреждение ДНК и развитие воспаления. С другой стороны, открытие эндогенной продукции диоксида серы у млекопитающих обнаружило его протекторное действие – антиоксидантное, противовоспалительное, антигипертензивное и антиатерогенное [28].

Впервые было показано, что сернистый газ эндогенно продуцируется в сердечно-сосудистой системе и обладает вазорелаксирующим действием. В настоящее время известно, что диоксид серы синтезируется во многих органах. Наиболее высокое содержание у крыс обнаружено в желудке, далее идут желудочки сердца, легкие, белое вещество мозга, почки, селезёнка и печень [28].

Эндогенный диоксид серы синтезируется в организме из серосодержащих аминокислот, прежде всего L-цистеина. Ключевым ферментом синтеза является аспаратаминотрансфераза, мРНК которой обнаруживается в эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов вблизи слоя эндотелия. Синтез эндогенного диоксида серы представляется сегодня следующим образом: L-цистеин под влиянием фермента

цистеиндиоксигеназы окисляется в L-цистеинсульфинат. Последний под действием аспаратаминотрансферазы путём трансаминирования превращается в бета сульфенилпируват, который далее спонтанно распадается на пируват и сернистый газ. Образовавшийся диоксид серы далее может гидрироваться в ионы бисульфита и сульфита, а затем окисляться сульфитооксидазой в сульфат, который выделяется в мочу.

Диоксид серы может синтезироваться у млекопитающих из L-цистеина также под влиянием фермента глутамат-оксалоацетат-трансаминазы. Наиболее изученным является регулирующее действие диоксида серы на сердечно-сосудистую систему. Проанализирована её роль в патогенезе кардиопульмональных заболеваний, таких как гипоксическая лёгочная гипертензия и ишемически-реперфузионное повреждение сердечно-сосудистой системы [28].

В экспериментах на крысах установлено, что воспроизведение лёгочной гипертензии путём повышения легочного кровотока сопровождается повышением процента мускуляризованных артерий, а также снижением концентрации диоксида серы, активности аспаратаминотрансферазы и экспрессии белка и мРНК аспаратаминотрансферазы-2 в лёгочной ткани. Введение животным донора диоксида серы смягчает повышение лёгочного артериального давления и уменьшает мускуляризацию лёгочных артерий, одновременно повышая продукцию сероводорода и экспрессию белков сероводород-синтезирующих ферментов в лёгочной ткани. Показано также, что дериваты диоксида серы усиливают вазорелаксацию и снижают артериальное давление у спонтанно гипертензивных крыс [28].

В экспериментах на крысах острое повреждение легких воспроизводили путём ишемии/реперфузии конечностей. При этом у животных достоверно снижался уровень диоксида серы и активность глутамат-оксалоацетат-трансаминазы в плазме крови. Введение донора диоксида серы предотвращало острое поражение лёгких у животных, а

ингибитор глутамат-оксалоацетат-трансаминазы гидроксамат усиливал его. Показано, что при индукции олеиновой кислотой острого повреждения лёгких у крыс снижается эндогенная продукция диоксида серы и повышается генерация активных форм кислорода. При этом повышение уровня эндогенного диоксида серы защищает от окислительного стресса и смягчает острое повреждение лёгких. Более того в экспериментах *ин витро* на клетках альвеолярного эпителия человека, обработанных олеиновой кислотой, диоксид серы снижал генерацию активных форм кислорода. Напротив, ингибитор эндогенной продукции сернистого газа способствовал генерации свободных радикалов, активировал каспазу-3 и способствовал апоптозу клеток [28].

В экспериментах с индукцией изопротеренолом повреждения миокарда у крыс тормозился аспаратаминотрансферазный путь синтеза диоксида серы, снижалась функция сердца, повышался уровень каспазы-12 в миокарде и апоптоз миокардиоцитов, а введение животным донора диоксида серы смягчало эти нарушения. На этой же модели повреждения миокарда протекторное действие диоксида серы сопровождалось повышением активности антиоксидантных ферментов в сердечной мышце. При экспериментальном атеросклерозе крыс, вызванном высокохолестериновой диетой и однократным введением витамина D₃, у животных нарушался обмен липидов, снижался уровень диоксида серы в плазме. Введение животным донора диоксида серы снижало атеросклеротические нарушения, повышало активность антиоксидантных ферментов. Показано также, что как экзогенный, так и эндогенный диоксид серы тормозит пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов.

Установлено, что сернистый газ вовлечён в патогенез неврологических расстройств. Показано, что при воспроизведении лихорадочных судорог у крыс в плазме и гиппокампе повышается уровень эндогенного диоксида серы, активность аспаратаминотрансфераз один и два, усиливается апоптоз нейронов гиппокампе. Предварительное введение

животным малых доз диоксида серы (1-10 мкмоль/кг) смягчало повреждение нейронами и уменьшало апоптоз нервных клеток, а высокие дозы (100 мкмоль/кг) как и торможение аспаратаминотрансферазы усиливали повреждение нейронов и повышали их апоптоз [28].

Таким образом, эндогенный сернистый ангидрид проявляет антиоксидантные свойства, что в соответствии со свободнорадикальной теорией старения, может обуславливать геропротекторный эффект.

2.3. Действие температурного фактора на продолжительность жизни

Все химические процессы, протекающие в организме, зависят от температуры. Изменения тепловых условий, часто наблюдаемые в природе, глубоко отражаются на росте, развитии и других проявлениях жизнедеятельности животных и растений. Различают организмы с непостоянной температурой тела пойкилотермные и организмы с постоянной температурой тела гомойтермные. Пойкилотермные животные целиком зависят от температуры окружающей среды, тогда как гомойтермные способны поддерживать постоянную температуру тела независимо от изменений температуры окружающей среды. Подавляющее большинство наземных растений и животных в состоянии активной жизнедеятельности не переносят отрицательной температуры и погибает. Верхний температурный предел жизни неодинаков для разных видов редко выше 40-45⁰С. Некоторые цианобактерии и бактерии обитают при температурах 70-90⁰С, в горячих источниках могут жить и некоторые моллюски (до 53⁰С). Для большинства наземных животных и растений оптимум температурных условий колеблется в довольно узких пределах (15-30⁰С). Верхний порог температуры жизни определяется температурой свертывания белков, поскольку необратимое свертывание белков (нарушение структуры белков) возникает при температуре около 60⁰С.

Пойкилотермные организмы в процессе эволюции выработали различные приспособления к изменяющимся температурным условиям

среды. Главным источником поступления тепловой энергии у пойкилотермных животных внешнее тепло. У пойкилотермных организмов выработались различные приспособления к низкой температуре. Некоторые животные, например, арктические рыбы, обитающие постоянно при температуре $1,8^{\circ}\text{C}$, содержат в тканевой жидкости вещества (гликопротеиды), препятствующие образованию кристаллов льда в организме; у насекомых накапливается для этих целей глицерин. Другие животные, наоборот, увеличивают теплопродукцию организма за счет активного сокращения мускулатуры так они повышают температуру тела на несколько градусов. Третьи регулируют свой теплообмен за счет обмена тепла между сосудами кровеносной системы: сосуды, выходящие из мышц, тесно соприкасаются с сосудами, идущими от кожи и несущими охлажденную кровь (такое явление свойственно холодноводным рыбам). Адаптивное поведение проявляется в том, что многие насекомые, рептилии и амфибии выбирают места на солнце для обогрева или меняют различные позы для увеличения поверхности обогрева. Насекомые развили впечатляющие стратегии выживания при низких температурах тела. Многие виды широко переохлаждают свои биологические жидкости и, таким образом, избегают замораживания, другие концентрируют растворенные вещества в жидкостях организма путем обезвоживания и, следовательно, также избегают замораживания, а третьи переносят образование льда в внеклеточных пространствах. Целый ряд физиологических корректировок противодействует разрушительным эффектам низких температур, например, накопление низкомолекулярных криопротекторов, синтез белков антифризов и ремоделирование клеточных мембран. Недавно было высказано предположение, что белки теплового шока (HSPs) также вносят вклад в холодоустойчивость насекомых [5].

У ряда холоднокровных животных температура тела может меняться в зависимости от физиологического состояния: к примеру, у летающих насекомых внутренняя температура тела может подниматься на $10-12^{\circ}\text{C}$ и

более вследствие усиленной работы мышц. У общественных насекомых, особенно у пчел, развит эффективный способ поддержания температуры путем коллективной терморегуляции (в улье может поддерживаться температура 34-35⁰С, необходимая для развития личинок).

Пойкилотермные животные способны приспосабливаться и к высоким температурам. Это происходит также разными способами: теплоотдача может происходить за счет испарения влаги с поверхности тела или со слизистой верхних дыхательных путей, а также за счет подкожной сосудистой регуляции (например, у ящериц скорость тока крови по сосудам кожи увеличивается при повышении температуры). Наиболее совершенная терморегуляция наблюдается у птиц и млекопитающих гомойотермных животных.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА РАЗЛИЧИЙ ПАРАМЕТРОВ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ ОТ НАЛИЧИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И СРЕДОВОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ

3.1. Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 4 лабораторные линии дрозофил, из них одна линия дикого типа – Canton S и три мутантные линии: ebony, Curly/Lobe, vestigial. Во всех экспериментах использовали стандартную дрожжевую питательную среду. Для получения массовых синхронных кладок в пробирки со средой помещали трёхдневных самок и самцов в количестве 30 особей (15♀ и 15♂) на одни сутки. Затем родителей отбрасывали и развитие дрозофил продолжалось в течении 10 суток. Через 1-3 суток после начала лёта ставили опыт. Эфиризировали одновозрастных дрозофил и помещали их в пробирки с питательной средой объемом 5мл, по 30 особей (15♀ и 15♂) в каждую. Через каждые пять суток мух пересаживали на свежий корм и вели регистрацию смертности вплоть до завершения цикла жизни у всех подопытных и контрольных особей (Приложение 1).

Было запланировано и проведено 2 эксперимента в разные временные промежутки (Приложение 2). В первом – сравнивали ПЖ 2-х мутантных линий с линией дикого типа и между собой. Во втором эксперименте формировали две опытные группы. Одну группу дрозофил помещали в термостат для воздействия тепловым шоком при температуре 38°C, время экспозиции 1ч 45 мин. Другую группу мух обрабатывали под стеклянным колоколом диоксидом серы (Приложение 3). Опытные группы сравнивались с контролем.

В работе использовали методы наблюдения, разведения лабораторных линий, метод фотосъемки и статистические методы.

Расчёты и графические построения выполнены в статистической программе OASIS 2, являющейся универсальным инструментом для различных статистических задач, связанных с анализом данных о выживании. Проводили учёт следующих данных о выживании: оценка Каплана-Майера, средняя продолжительность жизни, медианная продолжительность жизни, кривая выживаемости, лог-ранг тест.

3.2. Результаты и обсуждение

При обработке данных о ПЖ трех линий дрозофил было установлено, что такие показатели как средняя ПЖ, медиана и максимальная ПЖ (max ПЖ) уменьшаются в ряду Canton S, Curly/Lobe, vestigial. В линии Canton S средняя ПЖ составила (табл. 1.).

Лог-ранг тест показал, что различия в функциях выживания у этих трех линий статистически достоверны: Cy/L и vg ($\chi^2 = 39$); C-S и Cy/L ($\chi^2 = 34$); C-S и vg ($\chi^2 = 52$) при $p < 0,001$ (рис. 1).

Таблица 1

Показатели ПЖ двух мутантных и контрольной линий

ПЖ Canton S					ПЖ Curly/Lobe					ПЖ vestigial				
Средняя ПЖ ± ошибка среднего	М	min	max	N	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	М	min	max	N	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	М	min	max	N
34±0,8	35	20	64	69	29±0,8	27	9	63	80	21±1,2	20	9	41	57

М — медианная продолжительность жизни (дни); min и max — минимальная и максимальная продолжительность жизни в выборке; N — количество особей в выборке.

Предполагается, что мутации в генотипе у линий Curly/Lobe и vestigial уменьшают ПЖ данных экспериментальных групп. Анализируемые фенотипические мутации проявляются в изменении крыльев. Они в первом случае – загнуты, во-втором – недоразвиты. Эти

изменения влияют на характер движения, и, следовательно, на энергопотребление. Возможно, что у мутантных линий оно повышено, значит выше и уровень метаболизма. Высокий уровень метаболизма в свою очередь, коррелирует с более высокой скоростью старения. Эти рассуждения не противоречат свободнорадикальной, параметаболической и другим теориям старения [3,8,34].

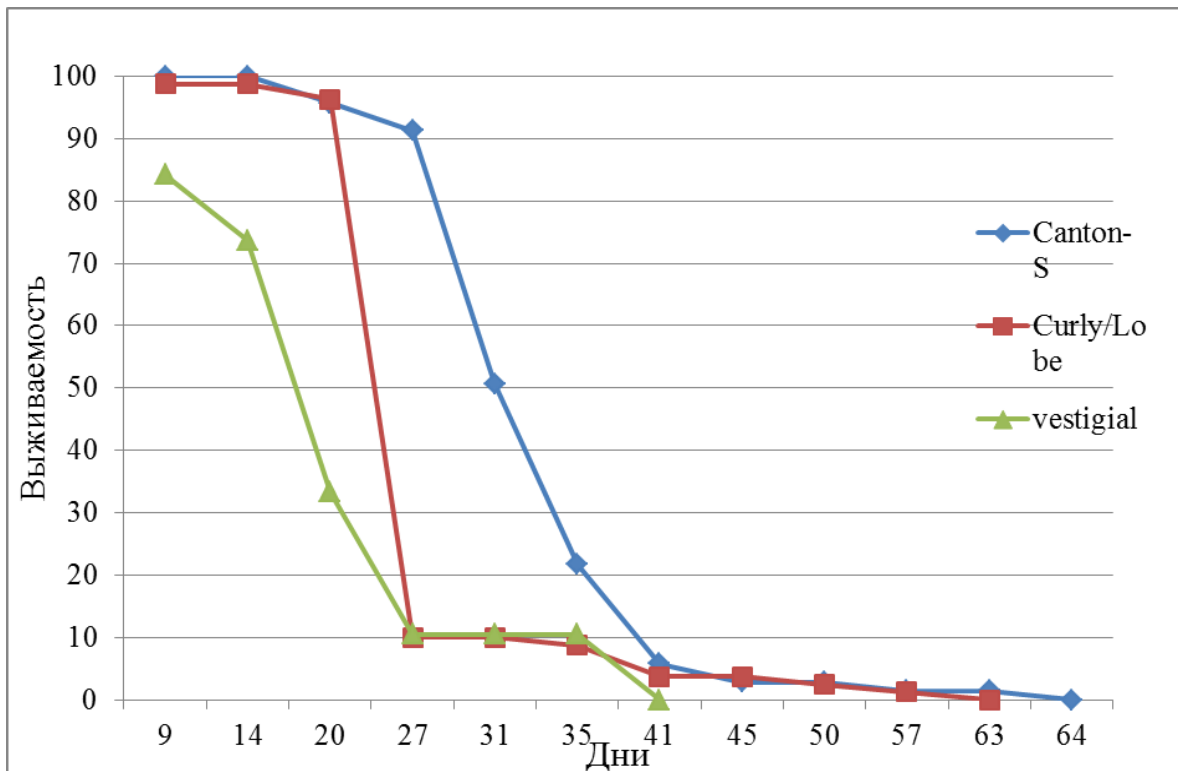


Рисунок 1 Кривые выживаемости линий Canton S, Curly/Lobe и vestigial

Во втором эксперименте опытную группу мух обрабатывали под стеклянным колоколом диоксидом серы. В приборе сжигалось 0,0086 г серы, время экспозиции составило 2 минуты. После обработки мух пересаживали в новые пробирки, а далее стандартно их поддерживали до гибели последней особи.

Опытную группу сравнивали с контролем, при сравнении оказалось, что медианная, средняя, минимальная и максимальная ПЖ больше у опытной группы (табл. 2.). Различия в функциях выживания статистически значимы ($\chi^2 = 31$, при $p < 0,001$) (рис. 2.).

Показатели ПЖ в опытной и контрольной группах

ПЖ Canton S в контроле					ПЖ Canton S при воздействии SO ₂				
М	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	min	max	N	М	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	min	max	N
51	49±1.2	8	70	109	56	58±1.3	20	83	108

М — медианная продолжительность жизни (дни); min и max — минимальная и максимальная продолжительность жизни в выборке; N — количество особей в выборке.

Предполагается, что экзогенный сернистый газ проявил эффекты характерные для эндогенного диоксида серы. В результате этого была увеличена ПЖ опытной группы.

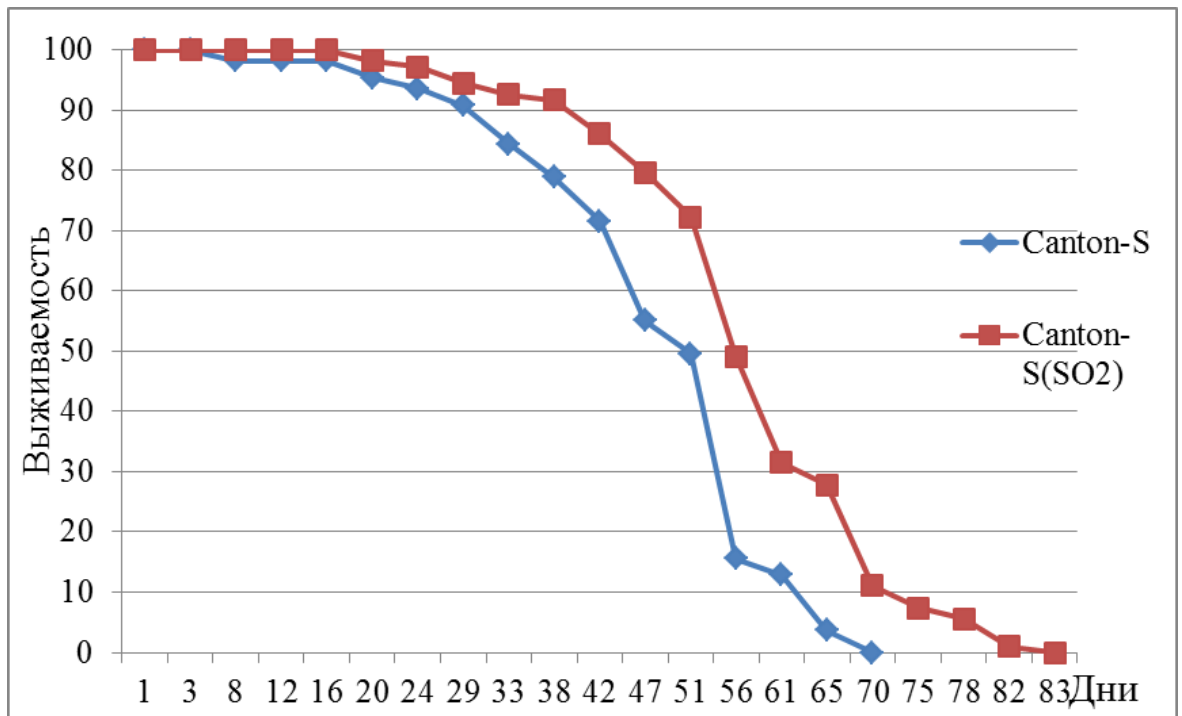


Рисунок 2 Кривые выживаемости контрольной и опытной групп линии Canton-S

Помимо обработки газом, во второй серии опытов мух стрессировали повышенной температурой. Опытную группу помещали в пустых пробирках в термостат при 38 градусах Цельсия, время экспозиции составил 1 час 45 мин. Пробная обработка дрозофил в течение двух часов привела к гибели всех особей.

При анализе данных были получены следующие результаты: медиана, средняя мин и макс оказалась выше у контроля (табл. 3). Различия в функциях выживания статистически значимы $\chi^2 = 25$, при $p < 0,001$ (рис. 3).

Таблица 3

Показатели ПЖ в опытной и контрольной группах

ПЖ Canton S в контроле					ПЖ Canton S при воздействии 38°C				
М	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	min	max	N	М	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	min	max	N
51	49±1.2	8	70	109	47	40±1.5	3	65	105

М — медианная продолжительность жизни (дни); min и max — минимальная и максимальная продолжительность жизни в выборке; N — количество особей в выборке.

Следует отметить, что насекомым сложно противостоять высоким температурам, которые быстро приводят к нарушениям метаболизма, коагуляции белков и гибели. Стресс был очень велик и вызвал последствия, которые не смогли быть скомпенсированы. Он повлёк изменение и нарушение различных метаболических каскадов, взаимодействие которых определило скорость старения и продолжительности жизни.

Изменение параметров ПЖ у группы дрозофил, подвергшихся температурному шоку, соответствуют логике ряда теорий старения, в частности, параметаболической теории.

Согласно основным положениям этой теории в основе всех проявлений старения лежит параметаболизм – совокупность всех неферментативных реакций, происходящих в клетке. При экстримальном для данного вида увеличении температуры в основном метаболизме увеличивается количество «ошибок», связанное с нарушением функционирования ферментов, кодируемых генами «домашнего хозяйства». В тоже время возрастает число химических реакций, относящихся к параметаболическим, для которых отмечается увеличение скорости прямо пропорционально росту температуры.

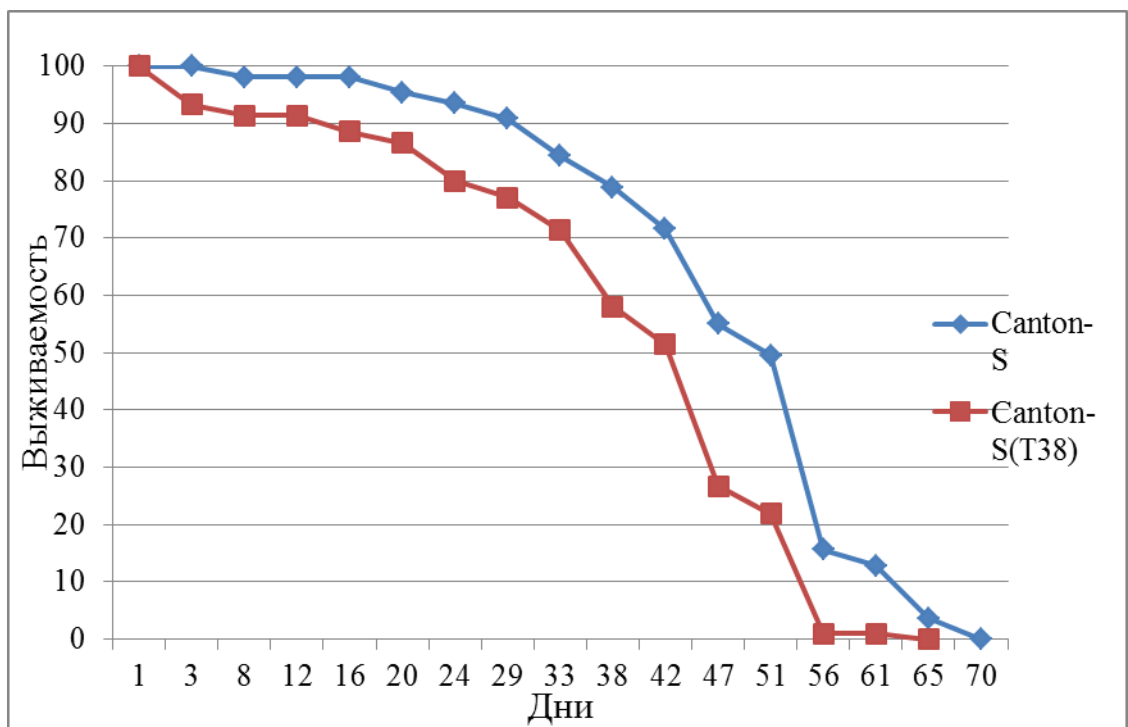


Рисунок 3 Кривые выживаемости контрольной и опытной групп Canton-S.

3.3. Методическая составляющая

В соответствии с ФГОС второго поколения, деятельностный подход выступает основным подходом в современном образовании. Всесторонняя

реализация данного подхода предусматривает осуществление проектной деятельности учащимися. Она прописана в стандарте образования и каждый ученик должен быть обучен этой деятельности. Программы всех школьных предметов ориентированы на данный вид деятельности. Устные экзамены в 9-х и 11-х классах предполагают защиту проекта как один из видов итоговой аттестации. И это не случайно, ведь именно в процессе правильной самостоятельной работы над созданием проекта лучше всего формируется культура умственного труда учеников. Через проектную деятельность формируются абсолютно все универсальные учебные действия, прописанные в Стандарте. Проектная деятельность учащихся сильно актуализирована в современной педагогике [23,24].

Проект — временная целенаправленная деятельность на получение уникального результата. Проектная деятельность является частью самостоятельной работы учащихся. Качественно выполненный проект — это поэтапное планирование своих действий, отслеживание результатов своей работы. Целью проектной деятельности является понимание и применение учащимися знаний, умений и навыков, приобретенных при изучении различных предметов.

Проектная деятельность характеризуется рядом положительных факторов. Наличие в проектной деятельности элемента самостоятельного выбора, повышает мотивацию и развивает творческие способности. Благодаря необходимости осмысленного выбора инструментария и планирования деятельности имеет место смещение акцента от инструментального подхода к технологическому. Происходит подсознательное формирование чувства ответственности: учащийся стремится доказать, в первую очередь, самому себе, что он сделал правильный выбор. При решении практических задач естественным образом возникают отношения сотрудничества с учителем, так как для обеих задач представляет содержательный интерес и стимулирует стремление к эффективному решению [25].

В рамках данной работы, было реализовано курирование проекта учащегося 10 класса, МАУ СОШ № 15. Тема проекта: «Влияние диоксида серы на продолжительность жизни плодовых мушек».

В ходе реализации проекта ученик использовал и углубил знания по биологии и химии. Он систематизировал основные понятия, связанные с центральным термином – продолжительность жизни, ознакомился с основными теориями старения, узнал новые свойства сернистого газа, предположил наличие геропротекторных свойств, основываясь на его антиоксидантном действии. Он познакомился с анализом выживаемости, поработал с модельными объектами, такими как плодовая мушка-дрозофила. Показал умение планировать свою деятельность, сформулировать цель исследования и соответствующие задачи, выдвигать гипотезу и обосновывать актуальность.

Навык сбора и обработки информации учащегося прогрессировал. Им были освоены новые информационные источники: научная электронная библиотека elibrary.ru и электронно-библиотечная система IPRbooks, получен навык работы в статистической программе OASIS 2

Сама проектная работа была защищена на отлично. Структура её включает введение, две главы, заключение и список литературы. Работа изложена на 21 странице, имеется 3 рисунка и 1 таблица (Приложение 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги проделанной работы, можно констатировать, что основные понятия, связанные с изучением ПЖ, разработаны, но в них много неоднозначности и дискуссионных моментов. Например, не существует общепризнанного определения старения, актуальным является выяснение, как связаны понятия болезнь и старение, являются ли они однозначными. Причина этого кроется в том, что первичный механизм старения, обсуждаемый в большом количестве теорий, не найден. Нет и общепризнанной, общей теории старения. Вместе с тем, некоторые понятия, применяемые в статистике и имеющие отношение к данной теме (смертность, выживаемость и другие) имеют чёткую интерпретацию.

Стоит отметить вклад отечественных геронтологов Голубева А.Г. и Трубицына А.Г. в создание обобщённой теории старения. В настоящее время в геронтологии накоплено большое количество экспериментальных данных, установлены процессы, обуславливающие тенденции к деградации организма с возрастом.

В области межвидовых различий по продолжительности жизни обозначены концептуальные проблемы, ведётся поиск видовых инвариантов.

ПЖ, как признак организма, зависит от огромного спектра разнообразных факторов внешней и внутренней среды. Открытие учёными сернистого газа, как эндогенного сигнального вещества, указало на его протекторные свойства: противовоспалительные, антиатерогенные, антигипертензивные и антиоксидантные. Наличие у сернистого ангидрида антиоксидантных свойств, даёт возможность предположить существование геропротекторного эффекта у данного соединения. Установлено, что температурный стресс оказывает сильнейшее влияние на все процессы, протекающие в организме, следовательно, влияет и на ПЖ. Выбранные нами для проведения эксперимента воздействия в виде единоразового теплового шока, обработки диоксидом серы, а также выяснение

межлинейных различий по ПЖ были интересны с позиций объяснения результатов, на основе проанализированных в работе теорий старения.

Для решения практических задач было проведено несколько экспериментов, по результатам которых сделаны следующие выводы:

1. Продолжительность жизни разных линий дрозофил уменьшалась в ряду: Canton-S > Curly/Lobe > vestigial. Во временном варианте средняя продолжительность жизни составила 34 ± 0.8 , 29 ± 0.8 , 21 ± 1.2 суток.

2. Медианная продолжительность жизни варьировала от 35 суток у линии Canton-S, до 27 суток у линии Curly/Lobe и самое меньшее значение этого показателя отмечено в линии vestigial – 20 суток.

3. В результате однократного воздействия диоксида серы на продолжительность жизни плодовых мух в 2-х экспериментах показано статистически значимое увеличение продолжительности жизни у опытной группы по сравнению с контрольным вариантом. Дрозофилы линии Canton-S прожили в среднем 49 ± 1.2 суток, в то время как дрозофилы этой же линии, подвергшиеся воздействию диоксида серы – 58 ± 1.3 суток.

4. Продолжительность жизни дрозофил, подвергнутых температурному стрессу, оказалась равной 40 ± 1.5 суток, в то время как в контроле она составила 49 ± 1.2 суток, различия статистически значимы.

Методическая часть работы реализована посредством курирования проекта школьника по тематике ВКР.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Анисимов, В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2 Т. [Текст] / В.Н. Анисимов – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Наука, 2008. – Т.1. – 481 с.
2. Анисимов, В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: В 2 Т. [Текст] / В.Н. Анисимов – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Наука, 2008. – Т.2. – 434 с.
3. Архангельская, Г.С. Избранные лекции по геронтологии и гериатрии: учебное пособие [Электронный ресурс] / Г.С. Архангельская, Р.Ф. Бакчеева, П.В. Борискин. – Самара: РЕАВИЗ, 2013. – 412 с. – Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/18403.html> (дата обращения 28.05.18).
4. Брусенцев, Е.Ю. Онтогенетические аспекты старения животных [Текст] / Е.Ю. Брусенцев, М.А. Тихонова, Ю.Э. Гербек // Онтогенез. – 2017. – Т. 48. – № 2. – С. 107-121.
5. Вайсман, Н.Я. Межгенерационные эпигенетические эффекты: влияние повышенной температуры на продолжительность жизни *drosophila melanogaster* [Текст] / Н.Я. Вайсман, М.Д. Голубовский // Журнал общей биологии. – 2016. – Т. 77. – № 6. – С. 456-463.
6. Гаврилов, Н.А. Биология продолжительности жизни [Текст] / Н.А. Гаврилов, Н.С. Гаврилова; отв. ред. В.П. Скулачев. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Наука. 1991. – 280 с.
7. Гаврилов, Л.А. Является ли старение болезнью? Точка зрения биодемографов [Текст] / Л.А. Гаврилов, Н.С. Гаврилова // Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 30. – № 6. – С. 841-842.
8. Геронтология in Silico: становление новой дисциплины. Математические модели, анализ данных и вычислительные эксперименты [Текст] / Г.И. Марчук, В.Н. Анисимов, А.А. Романюха и др. – 3-е изд., – М.: БИНОМ. ЛЗ, 2015. – 538 с.

9. Гланц, С. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. Гланс. – Пер. с англ. – М., Практика, 1998. – 459 с.
10. Голубев, А.Г. Является ли старение болезнью? Точка зрения биогеронтолога: старость \neq болезнь [Текст] / А.Г. Голубев // Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 30. – № 6. – С. 845-847.
11. Голубев, А.Г. Проблемы обсуждения вопроса о возможности подходов к построению общей теории старения. II. Параметаболическая теория старения [Текст] / А.Г. Голубев // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22. – № 2. – С. 184-192.
12. Голубев, А.Г. Амилоидозы, болезнь Альцгеймера и старение [Текст] / А.Г. Голубев // Успехи геронтологии. – 2000. – Вып. 4. – С. 102-112.
13. Голубев, А.Г. Проблемы обсуждения вопроса о возможности подходов к построению общей теории старения. I. Обобщенный закон Гомперца-Мэйкхема [Текст] / А.Г. Голубев // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22. – № 1. – С. 60-73.
14. Голубев, А.Г. Биохимия продления жизни [Текст] / А.Г. Голубев // Успехи геронтологии. – 2003. – Т. 12. – № 12. – С. 57-76.
15. Гусакова, С.В. Газовая сигнализация в клетках млекопитающих [Текст] / С.В. Гусакова, И.В. Ковалев, Л.В. Смаглий // Успехи физиологических наук. – 2015. – Т. 46. – № 4. – С. 53-73.
16. Единственная полная и имеющая смысл теория химических основ старения [Текст] / Редакционный комментарий // Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 30, № 3. – С. 320–322.
17. Москалёв, А.А. Старение и гены. [Текст] / А.А. Москалёв. – СПб.: Наука, 2008. – 358 с.
18. Москалёв, А.А. Является ли старение болезнью? Точка зрения генетика [Текст] / А.А. Москалёв // Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 30, № 6. – С. 843-844.

19. Москалев, А.А. Генетика и эпигенетика старения и долголетия [Текст] / А.А. Москалёв // Экологическая генетика. – 2013. – Т. XI, № 1. – С. 3-11.
20. Мякотных, В.С. Является ли старение болезнью? Точка зрения врача-гериатра [Текст] / В.С. Мякотных // Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 30, № 6. – С. 848-850.
21. Новосёлов, В.М. Является ли старение болезнью? [Текст] / В.М. Новосёлов // Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 30, № 6. – С. 836-840.
22. Пархитько, А.А. Киназа mTOR: регуляция, роль в поддержании клеточного гомеостаза, развитии опухолей и старении (обзор) [Текст] / А.А. Пархитько, О.О. Фаворова, Д.И. Хабибуллин // Биохимия. – 2014. – Т. 79. – № 2. – С. 128-143.
23. Пахомова, Н.Ю. Проектное обучение - что это? [Текст] / Н.Ю. Пахомова. // Методист. – 2004. – № 1. – С. 42-44.
24. Пеньковских, Е.А. Метод проектов в отечественной и зарубежной педагогической теории и практике [Текст] / Е.А. Пеньковских // Методист. – 2010 – № 4 – С. 53-57.
25. Савенков, А.И. Психологические основы исследовательского подхода к обучению: учебное пособие [Текст] / А.И. Савенков. – М.: «Ось-89», 2006.
26. Сергиев, П.В. Теории старения. Неустаревающая тема [Текст] / П.В. Сергиев, О.А. Донцова, Г.В. Березкин // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2015. – Т. 7. – № 1 (24). – С. 9-20.
27. Стратегия действий в интересах граждан старшего поколения в Российской Федерации до 2025 года [Текст] – М.: Омега-Л., 2016. — 47 с.
28. Сукманский, О.И. Газотрансмиттеры: физиологическая роль и участие в патогенезе заболеваний [Текст] / О.И. Сукманский, В.П. Реутов // Успехи физиологических наук. – 2016. – Т. 47. – № 3. – С. 30-58.
29. Трубицын, А.Г. Объединенная теория старения [Текст] / А.Г. Трубицын // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25. – № 4. – С. 563-582.

30. Трубицын, А.Г. Механизм фенотоза: 2. Лимит Хейфлика предопределяется запрограммированным снижением уровня биоэнергетики [Текст] / А.Г. Трубицын // Успехи геронтологии. – 2010. – Т. 23. – № 2. – С. 168–174.

31. Фархутдинова, Л.М. Окислительный стресс. История вопроса [Текст] / Л.М. Фархутдинова // Вестник Академии наук Республики Башкортостан. – 2015. – Т. 20. – № 1 (77). – С. 42-49.

32. Фролькис, В.В. Старение и биологические возможности организма [Текст] / В.В. Фролькис. – М.: Наука, 1975. – 272 с.

33. Чаплинская, Е.В. Старение: теории и генетические аспекты: учебно-метод. пособие [Текст] / Е.В. Чаплинская, В.Э. Бутвиловский. – Минск: БГМУ, 2014. – 74 с.

34. Ярыгина, В.Н. Руководство по геронтологии и гериатрии: в 4 Т. [Электронный ресурс] / В.Н. Ярыгина, А.С. Мелентьева – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – Режим доступа: <http://www.rosmedlib.ru/book> (дата обращения 30.04.2018).

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Сводные таблицы из дневника эксперимента

Таблица 4

Продолжительность жизни дрозофил линии дикого типа Canton-S и двух мутантных линий Cy/l и vg

Линии	Постановка опыта 15.09	Дни пересадок													Всего особей, прошедших эксперимент	
		21.09	26.09	2.10	9.10	13.10	17.10	23.10	27.10	1.11	8.11	14.11	15.11	16.11		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
C-S №1	30	0	0	0	0	10	5	4	0	0	1				20	
C-S №2	30	0	0	3	1	4	14	3							25	
C-S №3	30	0	0	0	2	14	1	4	2	0	0	0	1			24
Cy/l №1	30	0	0	2	22	0	1	0	0	1	0	1			27	
Cy/l №2	30	1	0	0	26	0	0	2							29	

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16			
Су/1 №3	30	0	0	0	21	0	0	2	0	0	1				24			
vg №1	30	4	2	14	6	0	0	3							29			
vg №2	30	5	4	9	7	2	0	3										
Указан номер пробирки	Количество особей в штуках (15 ♂15♀)	Количество погибших дрозофил (в особях)												Остальные улетели или убежали				

Чёрным выделены ячейки, в которых никого не осталось.

Таблица 5

Продолжительность жизни дрозофил линии Canton-S и мутантной линии ebony после воздействия диоксидом серы и температурой

Начало лёта 22.10	Количество особей, начало эксперимента 24.10	Даты пересадок																							Итого было в эксперименте. Остальные улетели.
		25.10	26.10	27.10	1.11	8.11	11.11	16.11	20.11	24.11	29.11	4.12	8.12	12.12	15.12	20.12	25.12	28.12	30.12	4.1	8.1	12.1	25.1	26.1	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T38 e №1	15♂15♀	Обр.		0	0	0	0	2	2	2	2	8	2	1	0	0	1	0	0	0	0	1			21
T38 e №2	15♂15♀	Обр.		0	2	по	0	0	3	1	1														4
T38 c-s №1	15♂15♀	Обр.		0	2	0	1	3	2	2	4	7	0	1											22
T38 c-s №2	15♂15♀	Обр.		0	0	0	1	2	3	4	5	5	0	1	1										22
SO ₂ 50мг, время экспозиции 3 мин.	15♂15♀		Обр.	12	1	2	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	5	0	3					27
SO ₂ 10мг, время экспозиции 1.4 минуты.	15♂15♀		Обр.	13	0	5	0	0	0	0	0	3	0	1	0	1	0	2	0	2					27

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
SO ₂ 10мг, время экспозиции 1.4 минуты.	15♂15♀		Обр.	14	0	3	1	1	1	1	1	3	1	0	1	1	0	0	0	2					30
Контроль с-с №1	15♂15♀			1	0	пот	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1								5
Контроль с-с №2	14♀			2	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	1	1	2	0	0	1					11
Контроль е №1	15♂15♀			1	0	пот	1	0	4	4	4	6													20
Контроль е №2	15♂15♀			0	0	пот	1	2	2	4	5	6	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	22
Контроль е №3	11♀			0	0	1	0	0	0	1	1	5	0	0	0	1									9

Красным цветом выделены ячейки где мух засыпало средой. Чёрным выделены ячейки, в которых никого не осталось. Обр.- обработка дрозифил газом и стрессирование температурой.

Таблица 6

Продолжительность жизни дрозофил линии Canton-S после воздействия диоксидом серы и температурой

Начало лёта 27.12(0)	Количество особей, начало эксперимен та	Даты пересадок																				И того было в эксперимен те. Остальные улетели.			
		28.12(1)	30.12(3)	4.01(8)	8.01(12)	12.01(16)	16.01(20)	20.01(24)	25.01(29)	29.01(33)	3.02(38)	7.02(42)	12.02(47)	16.02(51)	21.02(56)	26.02(61)	2.03(65)	7.03(70)	12.03(75)	15.03(78)	19.03(82)		20.03(83)	20.03(84)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
T38№1	15♂15♀	Обр. 0	0	0	0	1	1	1	2	1	4	2	2	0	13										27
T38№2	15♂15♀	Обр. 0	3	1	0	1	0	2	1	0	2	1	3	4	9										27
T38№3	15♂15♀	Обр. 0	3	0	0	0	1	3	0	3	4	2	11												27
T38№4	15♂15♀	Обр. 0	1	1	0	1	0	1	0	2	4	2	10	1	0	0	1								24
SO ₂ №1	15♂15♀	Обр. 0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	1	3	2	9	5	0	3	1	0	0	1			28
SO ₂ №2	15♂15♀	Обр. 0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	3	4	3	1	4	8	1	1					28
SO ₂ №3	15♂15♀	Обр. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	10	0	5	1	1	5				26
SO ₂ №4	15♂15♀	Обр. 0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	4	1	2	10	3	0	2	1						26
SO ₂ Уда р	15♂15♀	Обр. 0	18	0	0	0	0	0	2	1	0	2	3	1	3										30
Контро ль №1	15♂15♀		Пос. 0	0	0	0	0	0	1	0	2	2	3	3	12	1	2	2							28

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Контроль№2	15♂15♀		Пос.0	0	0	0	1	0	1	1	2	2	12	0	2	0	1	1						23
Контроль№3	15♂15♀		Пос.0	1	0	0	1	0	1	5	1	2	0	0	9	1	7	1						29
Контроль№4	15♂15♀		Пос.0	1	0	0	1	2	0	1	1	2	3	3	14	1						29		

Чёрным выделены ячейки, в которых никого не осталось. Обр.- обработка дрозофил газом и стрессирование температурой.

Приложение 2. Рабочие моменты эксперимента



Рисунок 4. Пересадка дрозофил на новую питательную среду



Рисунок 5. Учёт количества погибших особей

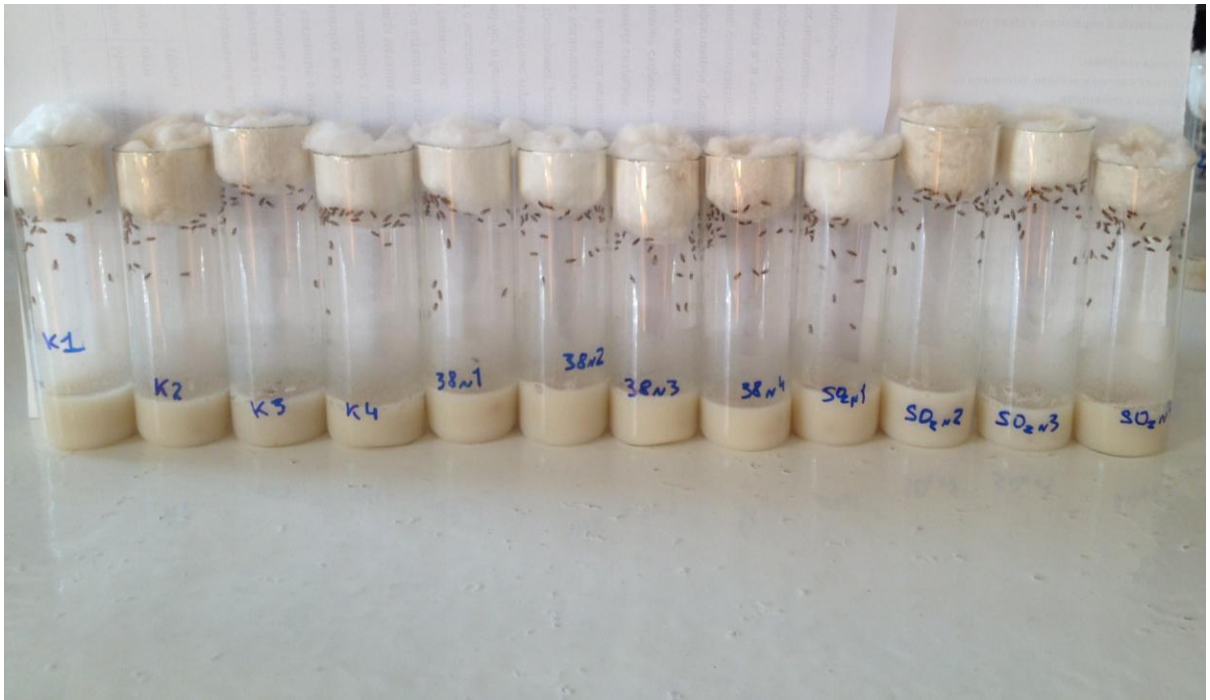


Рисунок 6. Закладка эксперимента



Рисунок 6. Особи, стрессированные температурой 38° С

Приложение 3. Установка для эксперимента с диоксидом серы



Рисунок 7. Обработка дрозофил диоксидом серы



Рисунок 8. Оборудование для обработки газом

Приложение 4. Исследовательский проект школьника

**МУНИЦИПАЛЬНОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«СРЕДНЯЯ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ШКОЛА № 15
г.ЧЕЛЯБИНСКА»**

Предметная область: естественнонаучные предметы

Предметы: химия и биология

**Влияние диоксида серы на продолжительность жизни плодовых
мушек**

Исполнитель:

Леонтьев Борис Александрович

ученик 10 «Б-1» класса

Руководители исследовательского проекта:

Рязанова Людмила Александровна,

Томчук Глеб Владимирович,

Михайлова Наталья Юрьевна

Челябинск

2018

Содержание

Введение	3 стр.
Глава 1 Литературный обзор	
1.1 Ключевые понятия	4 стр.
1.2 Теории и механизмы старения	6 стр.
1.3 Диоксид серы – фактор, влияющий на продолжительность жизни.	13 стр.
Глава 2 Экспериментальная часть	
2.1 Материалы и методы	16 стр.
2.2 Результаты и обсуждение	18 стр.
Заключение	20 стр.
Литература	21 стр.

Введение

Жизнь, смерть, возможность бессмертия – вечные темы духовной культуры человечества во всех её проявлениях. О них размышляли пророки и основоположники религий, философы и моралисты, деятели искусства и литературы, педагоги и медики. Вряд ли найдется взрослый человек, который рано или поздно не задумался бы о смысле своего существования, предстоящей смерти и достижении бессмертия. Поближе познакомиться с этой темой нам позволил данный проект.

Актуальность темы заключается в том, что данное исследование по-своему уникально. Метод обработки, условия содержания мух вряд ли повторялись с абсолютной точностью, а если и повторялись, то данные о работах не находятся в открытом доступе. Выбор диоксида серы в качестве воздействующего фактора обусловлен экологическими особенностями города Челябинска, а так же тем, что в русскоязычных источниках нет информации об исследовании влияния сернистого ангидрида на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*. Только в иностранных статьях есть информация об эффектах эндогенного диоксида серы на примере мышей. В ходе реализации проекта, решалась проблема отсутствия данных о продолжительности жизни дрозофил, обработанных диоксидом серы.

Цель проекта: изучить влияние диоксида серы на продолжительность жизни плодовых мушек.

Для достижение этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Рассмотреть содержание ключевых понятий по тематике проекта.
2. Осуществить обзор основных теорий старения.
3. Ознакомиться со свойствами диоксида серы.
4. Экспериментально изучить продолжительность жизни особей линии дикого типа Canton-S и использовать полученные данные в качестве контроля.
5. Опытным путём изучить продолжительность жизни особей этой же линии при воздействии диоксида серы.

Предполагаемый результат: в ходе экспериментов установить различие в продолжительности жизни особей подвергнутых воздействию оксида серы (IV) и особей, не обработанных в газовой фазе.

Объект исследования – плодовая муха дрозофила.

Предмет исследования – продолжительность жизни дрозофил.

Глава 1 Литературный обзор

1.1 Ключевые понятия

Исходя из названия проектной работы, считаем необходимым показать связь понятия продолжительность жизни с другими понятиями и дать им определение.

Коренным для продолжительности жизни выступает понятие жизнь. По М. В. Волькенштейну *жизнь*: «Живые тела, существующие на Земле, представляют собой открытые, саморегулирующиеся и самовоспроизводящиеся системы, построенные из биополимеров — белков и нуклеиновых кислот»[4]. Продолжительность жизни, это время, которое организм существует как живое.

Продолжительность жизни (ПЖ) — это длительность существования особи (её онтогенеза). Различают физиологическую, экологическую и среднюю ПЖ. Физиологическая ПЖ — максимальная для особей данного вида при оптимальных условиях существования, лимитируемая таким образом, лишь генетически. Экологическая ПЖ характеризует предельный возраст особей в естественных условиях и зависит от многих внешних факторов. Средняя ПЖ — возраст, которого в среднем достигают особи данной выборки, т. е. частное от деления суммы возрастов на число особей. Средняя ПЖ — переменная статистическая величина, колеблющаяся в разные моменты существования популяции. Физиологическая и экологическая ПЖ — константы в отношении соответствующего вида и популяции и практически трудно разграничиваемы; обычно говорят о максимальной видовой ПЖ, независимо от того, наблюдают ли её в искусственных или естественных условиях [3].

На ПЖ оказывает влияние множество факторов. Часть из них, относительно организма экзогенные, другие эндогенные (находятся в самом организме). Учёные геронтологи выдвигают на роль причин, механизмов старения некоторые факторы или их совокупность. Следовательно, такой процесс как старение влияет на ПЖ. Рассмотрим понятие – старение.

Используемые для описания старения термины, довольно неточны, к тому же не существует общепринятого определения старения.

Существуют различные определения старения, однако в какой-то мере они все ограничены, так как в них процесс искусственно вычленяется из всей сложности его течения. По А. А. Богомольцу, старение следует рассматривать как постепенное ослабление реактивности клеток, в основе

которого лежат биофизические и биохимические изменения клеточного вещества, изменение его физико-химической структуры, постепенная утрата клеткой способности к размножению и к обновлению своих биохимических структурных элементов, засорение клетки укрупненными частицами ее же собственной клеточной протоплазмы. По мнению Орди и Шейда, старение является снижением поведенческих, физиологических и биохимических приспособлений к внутренней и внешней среде. Комфорт определял старение как изменение поведения организма с возрастом, которое приводит к снижению выживания и приспособления. По Стрелеру, старение характеризуется универсальностью, эндогенностью, постепенностью и разрушительностью. По определению Нагорного, все организмы от простейших до высших позвоночных подвергаются возрастному развитию (старению в широком смысле этого слова) и каждая система с неизбежностью как к естественному следствию приходит к его прекращению [4].

Несмотря на существующие противоречия, большинство исследователей фиксируют внимание на основных проявлениях старения. *Старение* — это неизбежно возникающий, закономерно развивающийся разрушительный процесс ограничения адаптационных возможностей организма, увеличения вероятности смерти, сокращения продолжительности жизни, способствующий развитию возрастной патологии [4].

1.2 Теории и механизмы старения

Весь массив теорий можно разделить на две группы: стохастические и программированные. Теоретическая база стохастических теорий весьма убедительна: еще в середине XX в. П. Б. Медавар показал, что признак «продолжительность жизни» неподконтролен индивидуальному (дарвиновскому) естественному отбору. Он заметил, что животные в естественной среде обитания практически никогда не доживают до старости и гибнут от разных внешних причин еще в молодом возрасте. Из-за этого естественный отбор не может дифференцировать их по признаку долголетия, следовательно, не может существовать и специфических генов старения, предопределяющих естественную продолжительность жизни. Этот взгляд доминирует по настоящее время. Опыты неопровержимо свидетельствуют, что с возрастом нарастает количество повреждающих агентов (таких как АФК – активные формы кислорода) и поврежденных ими биополимеров, прогрессивно увеличивается количество

функционально неполноценных биополимеров из-за стохастических ошибок в процессах редупликации, транскрипции, трансляции и процессинга. Из-за этого, как предполагается, снижается эффективность репарационных механизмов, нарушается гомеостаз обновления тканей и происходит множество других деструктивных процессов, сопровождающих старение [7].

Представление о запрограммированном характере старения, высказанное А. Вейсманом еще в конце XIX в., не находило поддержки почти столетие. Лишь в конце XX в. оно начало реанимироваться под напором эмпирических данных, неопровержимо свидетельствующих, что продолжительность жизни, как минимум частично, предопределяется генетической программой. Однако из-за отсутствия убедительного механизма запрограммированного старения эта точка зрения пока не получила широкого признания, хотя уже показано, что продолжительность жизни находится под контролем естественного отбора, и гены долголетия существуют. Сторонники этого направления ведут сейчас поиск генов долголетия практически вслепую методом проб и ошибок. Найдено множество генов, модификация которых влияет на продолжительность жизни разных организмов. В результате, сложилось представление, что процесс старения многофакторный, то есть контролируется множеством генов [7].

Сейчас в центре внимания геронтологов находится несколько теорий, которые базируются на надежно установленных процессах, реально способных привести к возрастной деградации организма: увеличение уровня АФК, снижение общего уровня синтеза белков, прекращение клеточных делений после определенного числа удвоений (лимит Хейфлика), изменение гормонального статуса организма, ослабление репарационных механизмов и другие. Рассмотрим некоторые из них.

Свободнорадикальная теория

Одной из наиболее плодотворно развивающихся в последние годы фундаментальных теорий является свободнорадикальная теория старения, практически одновременно выдвинутая D. Harman в 1956 г. и Н. М. Эмануэлем в 1958 г. Согласно этой теории, причиной нарушения функционирования клеток являются необходимые для многих биохимических процессов свободные радикалы— активные формы кислорода (АФК), которые в норме образуются в качестве побочных продуктов метаболизма в каждой клетке [2].

Если очень агрессивный, химически активный свободный радикал случайно покидает то место, где он нужен, он может повредить и ДНК, и РНК, и белки, и липиды. Особенно опасно перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот в состав мембран клеток, поскольку продукты реакции (пероксиды и гидропероксиды) сами обладают высоким окисляющим потенциалом, и поэтому процесс разрушения клеток приобретает лавинообразный характер: АФК действуют на основания, присутствующие в составе нуклеиновых кислот, аминокислот боковых цепей белков и двойные связи в ненасыщенных жирных кислотах с образованием альдегидов и кетонов, поперечных сшивок и продуктов перекисного окисления липидов. Повреждение макромолекул (и клетки в целом) в результате действия АФК называется окислительным стрессом [2].

Полагают, что АФК вызывают повреждения мембран, коллагена, ДНК, хроматина, структурных белков, а также участвуют в эпигенетической регуляции экспрессии ядерных и митохондриальных генов, приводя к метилированию ДНК, влияют на внутриклеточный уровень кальция и т. д. Все это приводит к старению, и широкому кругу ассоциированных с ним патологических процессов (сердечно-сосудистые заболевания, возрастные иммунодепрессия и дисфункция мозга, катаракта, рак и некоторые другие).

Подавляющее большинство АФК нейтрализуется еще до того, как успеют нанести ущерб тем или иным компонентам клетки. Так, из каждого миллиона образующихся супероксидных радикалов от ферментной защиты ускользает не более четырех. К основным эндогенным факторам антиоксидантной защиты организма относятся некоторые ферменты и витамины.

Показано, что видовая ПЖ прямо коррелирует с активностью супероксиддисмутазы (СОД), содержанием β -каротина, α -токоферола и мочевой кислоты в сыворотке крови. Витамин Е, мелатонин, хелатные агенты и некоторые синтетические антиоксиданты увеличивали ПЖ экспериментальных животных. Однако то обстоятельство, что продукты взаимодействия АФК с макромолекулами постоянно обнаруживаются в органах и тканях организма, свидетельствует о том, что системы антиоксидантной защиты недостаточно эффективны и что клетки постоянно подвергаются окислительному стрессу.

Теория репликативного старения

В 1961 г. геронтолог Л. Хейфлик установил, что человеческие клетки кожи имеют предел деления — «в пробирке» не более 50 раз. Он констатировал, что даже в идеальных условиях культивирования

фибробласты эмбриона человека способны делиться только ограниченное число раз (50 ± 10). Последняя фаза жизни их в культуре была уподоблена клеточному старению, а сам феномен получил по имени автора название «предела Хейфлика» [2].

Сам Хейфлик не предложил объяснение этого явления, но продолжил развивать свою теорию клеточного старения.

Теломерная теория

В 1971 г. научным сотрудником Института биохимической физики РАН А. М. Оловниковым, была предложена гипотеза, объяснившая предел деления клетки. Анализируя экспериментальные данные Л. Хейфлика, автор выдвинул теорию маргинотомии (от латинского слова *margo* — край и греческого слова «томе» — отсечение). Основным предметом изучения этой теории явилась способность клеток помнить о лимите удвоений ДНК. Еще в 1966 г. А. М. Оловников пришел к заключению, что ДНК-полимераза при каждом делении клеток начинает копировать цепочку ДНК не с самого начала и заканчивает не на самом конце хромосомы (рис. 9). При этом остаются недокопированные концевые фрагменты теломерной ДНК, которая состоит из коротких консервативных тандемных повторов. Недорепликация приводит к укорочению реплики по сравнению с матрицей. Следовательно, при каждом клеточном делении хромосомы немного сокращаются, теломеры становятся короче и в какой-то момент настолько, что клетка уже не может делиться и теряет жизнеспособность — именно в этом и состоит старение клеток. То есть при исчерпании защитной функции теломер при каждом следующем копировании «информационная часть» ДНК должна была бы пострадать, а клетки постареть. Данный процесс был положен в основу теломерной теории. Теория предполагала, что «нестарение» бактерий обусловлено кольцевой формой ДНК, а теломерные последовательности в половых, стволовых и раковых клетках защищены от недокопирования особой формой ДНК-полимеразы. Открытие этого фермента — теломеразы (экспериментальные работы Э. Блекберн, 1985 г.), достраивающего укороченные теломеры в половых и опухолевых клетках, стало подтверждением теории Оловникова. Однако сам автор в дальнейшем отказался от собственной теории старения. Причина этого проста: все предсказания теории получили подтверждение кроме одного, для автора самого главного: укорочение теломер, действительно, коррелирует с числом пройденных клеточных делений и старением клеток, но не является причиной самого старения, как такового. Взамен ученый предложил редусомную теорию, описывающую укорочение структур (хрономер и принтомер) в «латеральной ДНК».

Согласно последним публикациям Оловникова (в 2004 и 2007 гг.) основным регулятором данного укорочения являются гравитационные лунные ритмы [5].

Элевационная теория

Основоположником элевационной (от лат. *elevatio* — подъем) теории является геронтолог В. М. Дильман. По его мнению, в основе процессов развития и старения главную роль играет основной нейроэндокринный орган — гипоталамус. Возрастное снижение его чувствительности к регуляторным сигналам и лежит в основе старения организма. В серии экспериментальных исследований и клинических наблюдений было установлено, что именно этот процесс приводит к возрастному включению и выключению функции репродуктивной системы в женском организме, к возрастным изменениям в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе, обеспечивающей тонический уровень глюкокортикоидных гормонов в крови, их циркадный ритм, повышение секреции при стрессе, и к развитию состояния, обозначенному как «гиперадаптоз». Также показано, что у пожилых мужчин гипоталамус вырабатывает меньше гонадотропинрилизинг гормона, а семенники хуже реагируют на действие гонадотропинов гипофиза. Результатом таких нарушений являются гормональные расстройства [8].

В результате возрастных изменений, происходящих в системе метаболического гомеостаза, регулирующего аппетит и энергетическое обеспечение функций организма, происходит нарастание с возрастом содержания жира в теле, снижение чувствительности тканей к инсулину (предиабет) и развитие атеросклероза [8].

Важным этапом в развитии элевационной теории было установление роли возрастных изменений, закономерно возникающих в трех основных «супергомеостатах» (репродуктивном, адаптационном и метаболическом), в формировании таких феноменов, как метаболическая иммунодепрессия и канкрофилия, т. е. в формировании условий, способствующих возникновению злокачественных новообразований [2].

Развивая и углубляя на протяжении почти 40 лет свою концепцию, В. М. Дильман пришел к убеждению, что старение (и главные болезни, сцепленные со старением) не запрограммировано, а есть «побочный продукт реализации генетической программы онтогенеза — развития», и поэтому старение возникает с закономерностью, свойственной генетической программе. Выдвинутая им онтогенетическая модель развития возрастной патологии открыла новые подходы к профилактике преждевременного старения и болезней, связанных с возрастом и

являющихся основными причинами смерти человека. Из онтогенетической модели возникновения болезней следует, что их развитие можно затормозить, если стабилизировать состояние гомеостаза на уровне, достигаемом к окончанию развития организма. Если замедлить скорость старения, возможно, удастся увеличить и видовые пределы жизни человека [8].

Объединённая теория старения

Трубицын А. Г., автор данной теории, выдвигает на роль механизма старения генетически контролируемое снижение уровня биоэнергетики при каждом делении клетки. Автор аргументирует зависимость от уровня энергетики таких признаков, как: увеличение уровня АФК, снижение уровня синтеза белка и репарации ДНК при старении, невозможность бесконечного деления клеток. А также связывает возрастное снижение биоэнергетики с часами старения и с эффектом увеличения продолжительности жизни при низкокалорийной диете.

В логике данной теории уровень биоэнергетики – это величина изменения энергии Гиббса для данной системы, она в свою очередь зависит от соотношения концентраций восстановленных и окисленных форм макроэргических соединений клетки и температуры. Биоэнергетической машиной дающей определённый уровень энергии выступают митохондрии.

Возрастное увеличение уровня АФК и сопутствующего уровня повреждений структур клетки в рамках теории объясняется следующим. Образующийся при работе дыхательной цепи супероксид модифицируется митохондриальной супероксиддисмутазой в перекись водорода. Далее она разлагается системами глутатиона и тиоредоксина, которые энергозависимы, или разлагается по реакции Фентона, которая не требует энергии от митохондрий. При возрастном затухании биоэнергетики разложение по энергозависимым путям идёт в меньшей степени, а по реакции Фентона наоборот, протекает активнее. Это даёт увеличение количества вторичных свободных радикалов, т.к. они являются побочными продуктами реакции Фентона, и соответственно увеличение ущерба структур клетки.

Такой вредоносный процесс, как снижение уровня синтеза белков при старении, также зависит от энергетического потенциала, генерируемого биоэнергетической машиной (соотношение АТФ/АДФ). Скорость регулирующей стадией трансляции является инициация. Для её начала необходим комплекс фактора инициации с гуанозинтрифосфатом (eIF2•GTP). Данный комплекс, после прохождения ряда реакций, должен

быть преобразован в исходную форму и вступить в новый цикл инициации. Для этого необходимо поддержание оптимального уровня гуанозинтрифосфата, а его концентрация зависит от уровня аденизинтрифосфата [7].

Запрограммированное снижение уровня биоэнергетики с возрастом неизбежно вызовет снижение эффективности репарации. Ключевую роль в восстановлении поврежденных структур ДНК играет эксцизионная репарация, при которой происходит распознавание поврежденных участков, их вырезание на одной из цепей с последующей комплементарной застройкой образовавшихся пробелов. Этот процесс, происходящий по принципу «вырежь-и-латай» (cut-and-patch), многоэтапный и катализируется большой группой ферментов, причем каждый этап требует энергетических затрат в форме окисления АТФ. Как уже упоминалось, активность любой энергозависимой химической реакции зависит от энергообеспечения [7].

Кратко и несколько утрировано суммировав доводы автора по остановке пролиферации старых клеток, получается следующее: прохождению точки рестрикции препятствует ингибитор циклинзависимых киназ (р27). В клетке существует специальный насос по его откачке. Эффективность его работы зависит от энергообеспечения. При запрограммированном снижении клеточной биоэнергетики ниже определенного порогового уровня он перестает откачивать ингибитор, и деления клеток становятся невозможными.

В отношении часов старения Трубицын рассуждает следующим образом: генетическая программа переключает уровень биоэнергетики клетки на новое более низкое значение в процессе каждого очередного деления. Следовательно, длительность жизни клеток отсчитывается пролиферативными часами — ход времени предопределяется скоростью делений, а исполнительный механизм (механизм старения) суммирует результаты событий, снижая уровень биоэнергетики после каждого удвоения. Таким образом, часы старения отсчитывают количество прошедших делений, а не календарное время. Эти часы задают скорость деградации организма, а следовательно, и долголетие. Так же автор указывает, что эволюционно необходимое изменение продолжительности жизни согласно пролиферативным часам старения, может достигаться изменением исходной величины биоэнергетики и/или величины ее снижения при каждом делении клеток [7].

1.3 Диоксид серы – фактор, влияющий на продолжительность жизни.

Как отметил еще Бэкон, в оценке долголетия и не долголетия животных наши данные скудны, наблюдения небрежны, а традиции баснословны. Во всяком случае долголетие, очевидно, редкий феномен в животном мире. В естественных условиях обитания добыча пищи, необходимой для существования, бегство от хищника, приближение врага или добычи, смена времени года и т. д. требуют от животных значительной мышечной активности, скоростных ответов, высокой чувствительности анализаторных систем, большого диапазона реакций сердечнососудистой системы и другое. Развитие старения, возникновение даже недалеко зашедших изменений адаптационных возможностей сказываются на скоростных реакциях, работоспособности, четкости анализа окружающей среды. Невозможность, как прежде, догнать жертву, удрать от хищника, увидеть или услышать опасность, мигрировать на большие расстояния и т. п. — все это, являясь в конечном итоге проявлением возрастного снижения приспособления, делает животное безоружным, голодным, умирающим. Иными словами, образ жизни большинства животных способствует тому, что уже первые проявления старения, т.е. ограничения приспособительных возможностей, становятся причиной их гибели в условиях действия окружающей среды.

Необходимо отметить, что труд изменил взаимоотношение человека и среды и тем самым повлиял на его ПЖ. Возрастные изменения, ранние проявления снижения адаптационных возможностей, благодаря психике человека, помощи семьи и общества перестали столь губительно влиять на человека. Все это сделало возможным долголетие человека, привело к тому, что он продолжает жить при такой степени возрастных изменений, до которых не доживают животные в естественных условиях обитания [4].

Другими словами, все факторы среды, действующие на организм, влияют на его состояние, а значит и на ПЖ организма. Суммация эффектов факторов среды и эффектов старения и определяет ПЖ организма в природе.

В рамках данной работы, было выявлено влияние такого фактора внешней среды, как диоксид серы. Оксид серы(IV) (диоксид серы, двуокись серы, сернистый газ, сернистый ангидрид) — соединение серы с кислородом состава SO_2 . В нормальных условиях представляет собой бесцветный газ с характерным резким запахом (запах загорающейся спички). Под давлением сжижается при комнатной температуре. Растворяется в воде с образованием нестойкой сернистой кислоты (H_2SO_3); растворимость SO_2 11,5 г/100 г воды при 20 °С, снижается с ростом

температуры. Растворяется также в этаноле и серной кислоте. Один из основных компонентов вулканических газов.

Диоксид серы очень токсичен. Симптомы при отравлении сернистым газом — насморк, кашель, охриплость, сильное першение в горле и своеобразный привкус. При вдыхании сернистого газа более высокой концентрации — удушье, расстройство речи, затруднение глотания, рвота, возможен острый отёк лёгких. При кратковременном вдыхании оказывает сильное раздражающее действие, вызывает кашель и першение в горле.

ПДК (предельно допустимая концентрация): в атмосферном воздухе максимально-разовая — 0,5 мг/м³, среднесуточная — 0,05 мг/м³; в помещении (рабочая зона) — 10 мг/м³

Интересно, что чувствительность по отношению к SO₂ различна у отдельных людей, животных и растений. Так, среди растений наиболее устойчивы по отношению к сернистому газу берёза и дуб, наименее — роза, сосна и ель.

В промышленных районах концентрация диоксида серы обычно достигает 0,05–0,1 мг/м³; в сельских районах она в несколько раз меньше, а над океаном меньше в 10–100 раз. В сельской местности фоновая концентрация близка к 0,5 мкг/м³, а концентрация в городах в 50–100 раз выше. Из-за химических превращений время жизни диоксида серы в атмосфере невелико (порядка нескольких часов). В связи с этим возможность загрязнения и опасность воздействия непосредственно диоксида серы носят, как правило, локальный, а в отдельных случаях региональный характер [1].

Наиболее крупными источниками выбросов двуокиси серы являются тепловые электростанции, работающие на твердом и жидком топливе, а также металлургические предприятия. Большинство этих источников осуществляет выбросы из труб на высотах 100–200 м от поверхности земли, в результате чего они значительно рассеиваются до попадания в приземный слой атмосферы. В Челябинске это: предприятия группы «Мечел», ОАО «Челябинский электрометаллургический комбинат», ОАО «Челябинский электрометаллургический комбинат», ОАО «Челябинский трубопрокатный завод», ОАО «Челябинский цинковый завод», предприятия производства и распределения электроэнергии, газа и воды (ТЭЦ-1, ТЭЦ-2, ТЭЦ-3, ЧГРЭС). Значительную роль в загрязнении атмосферного воздуха городов двуокисью серы играют такие источники: мелкие котельные с низкими трубами, небольшие предприятия местной промышленности, печные трубы жилых домов. Таких источников в

современном городе может насчитываться до нескольких сотен и Челябинск не исключение [1].

Высокие концентрации диоксида серы вызывают серьезное повреждение растительности. Острое повреждение, вызванное диоксидом серы, отражается в появлении белесых пятен на широколистных растениях или обесцвеченных некротических полос на листьях с продольным жилкованием. Хронический эффект проявляется как обесцвечивание хлорофилла, приводящее к пожелтению листьев, появлению красной или бурой окраски, которая в нормальных условиях маскируется зеленой. Независимо от формы проявления, результатом является снижение продуктивности и замедление роста. Лишайники особенно чувствительны к двуокиси серы и используются как биоиндикаторы при определении его избыточных количеств в воздухе. Однако диоксид серы не всегда вызывает повреждение: в сульфатдефицитных местностях дополнительные небольшие уровни диоксида серы могут благотворно влиять на растения, однако происходящее параллельно некоторое подкисление почвы может потребовать дополнительного известкования [1].

Воздействие диоксида серы в концентрациях выше предельно допустимых может приводить к существенному увеличению различных болезней дыхательных путей, воздействовать на слизистые оболочки, вызывать воспаление носоглотки, бронхиты, кашель, хрипоту и боль в горле. Особенно высокая чувствительность к диоксиду серы наблюдается у людей с хроническими нарушениями органов дыхания, с астмой.

Помимо экзогенного сернистого газа, в организме животных образуется в результате метаболизма эндогенный сернистый газ. Роль эндогенного сернистого газа в физиологии организма млекопитающих ещё окончательно не выяснена [6].

Сернистый газ блокирует нервные импульсы от рецепторов растяжения лёгких и устраняет рефлекс, возникающий в ответ на перерастяжение лёгких, стимулируя тем самым более глубокое дыхание. Считают, что эндогенный сернистый газ играет важную физиологическую роль в регуляции функций сердечнососудистой системы, а нарушения в его метаболизме могут играть важную роль в развитии таких патологических состояний, как лёгочная гипертензия, гипертоническая болезнь, атеросклероз сосудов, ИБС, ишемия-реперфузия и другие. Последние исследования показывают также, что эндогенный сернистый газ вовлечён в регуляцию липидного метаболизма и в процессы ишемии-реперфузии.

Глава 2 Экспериментальная часть

2.1 Материалы и методы

Материалом для исследования послужила линия дикого типа дрозофил – Canton S. Во всех экспериментах использовали стандартную дрожжевую питательную среду. Для получения массовых синхронных кладок в пробирки со средой помещали трёхдневных самок и самцов в количестве 30 особей (15♀ и 15♂) на одни сутки. Затем родителей отбрасывали и развитие дрозофил продолжалось в течении 10 суток. Через 1-3 суток после начала лёта ставили опыт. Эфиризировали одновозрастных дрозофил и помещали их в пробирки с питательной средой объемом 5мл, по 30 особей (15♀ и 15♂) в каждую (рис. 1). Через каждые пять суток мух пересаживали на свежий корм и вели регистрацию смертности вплоть до завершения цикла жизни у всех подопытных и контрольных особей.

Опытную группу мух обрабатывали под стеклянным колоколом диоксидом серы (рис. 2). В приборе сжигалось 0,0086 г серы. Опытная группа сравнивалась с контролем.

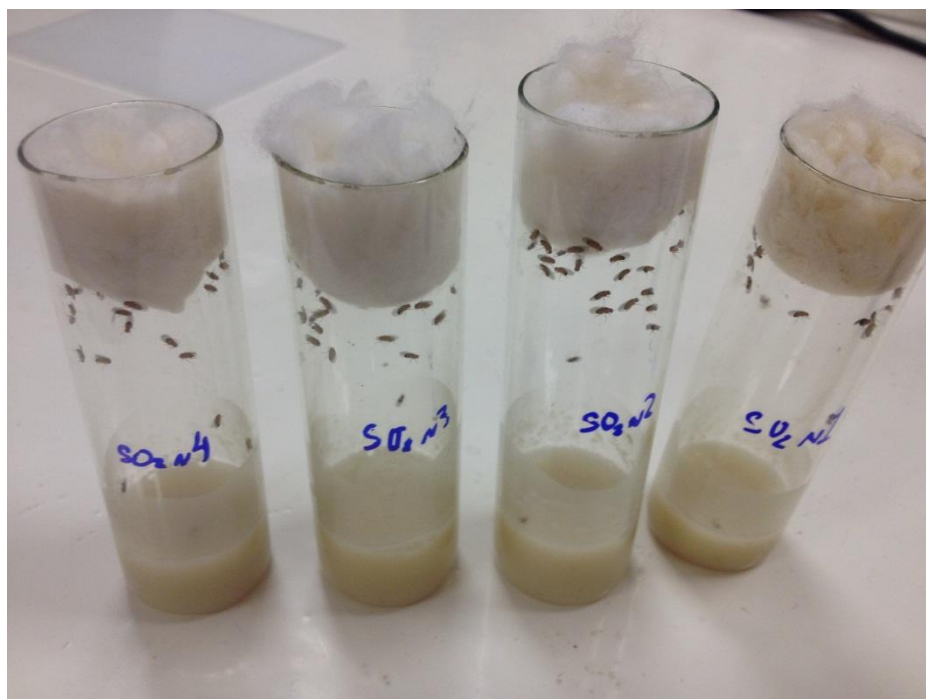


Рис. 1. Пробирки с опытными мухами

В работе использовали методы наблюдения, разведения лабораторных линий, метод фотосъемки и статистические методы.

Расчёты и графические построения выполнены в статистической программе OASIS 2, являющейся универсальным инструментом для различных статистических задач, связанных с анализом данных о выживании. Проводили учёт следующих критериев:

1. Оценка Каплана-Майера, которая даёт информацию о средней продолжительности жизни, кривых выживаемости;

2. Лонг-ранг тест, который позволяет сравнивать кривые выживаемости, построенные по данным опыта и контроля, показывает статистическую значимость различий между ними.



Рис. 2. Прибор для обработки дрозофил сернистым газом

2.2 Результаты и обсуждение

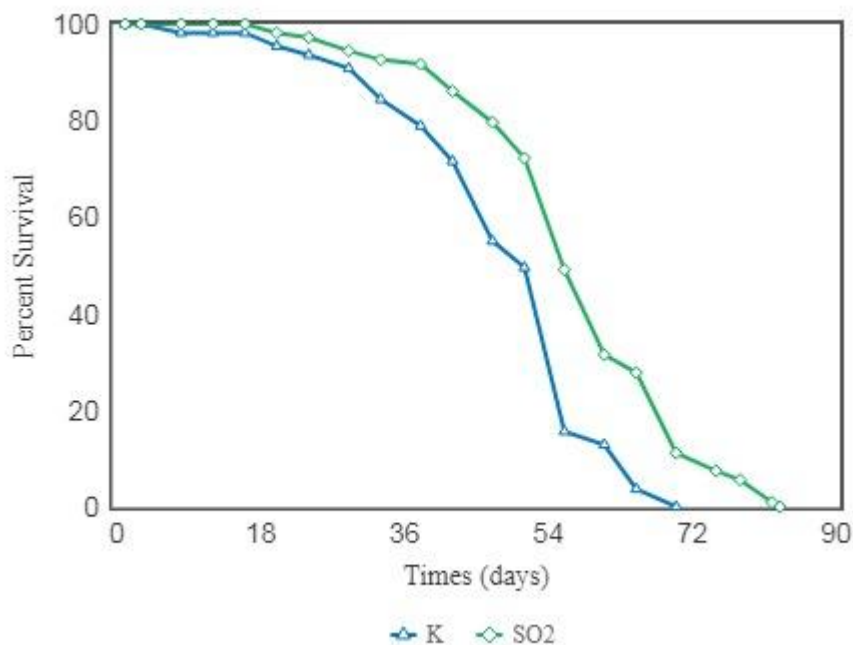
В результате проведенного эксперимента были получены следующие данные по продолжительности жизни (см. табл. 1). У опытной группы наблюдали достоверное увеличение средней ПЖ по сравнению с контролем. У мух, обработанных диоксидом, так же больше минимальная и максимальная ПЖ чем у контрольной группы.

Таблица 1

ПЖ Canton S в контроле				ПЖ Canton S при воздействии SO ₂			
Средняя ПЖ ± ошибка среднего	min	max	N	Средняя ПЖ ± ошибка среднего	min	max	N
49±1.2	8	70	109	58±1.3	20	83	108

Отличия с контролем достоверны при $p < 0,001$; M — медианная продолжительность жизни (дни); min и max — минимальная и максимальная продолжительность жизни в выборке; N — количество особей в выборке.

На рисунке №3 видно различие кривых выживаемости контрольной и опытной группы, различия между ними достоверны при $p < 0,001$, $\chi^2 = 31$.



По оси абсцисс указано время, а по оси ординат процент выживших; K — контроль; SO₂ — опыт.

Рис. 3. Кривые выживаемости контрольной и опытной групп дрозофил

Полученные результаты, по-видимому, объясняются антиоксидантным и регуляторным действием оксида серы (VI). Эффект экзогенного диоксида серы в проведённом эксперименте проявился при небольших дозах. Данное нами объяснение согласуется с показанными свойствами эндогенного сернистого газа.

Полученный результат можно так же объяснить тем, что сернистый ангидрид проявляет антимикробный эффект, подавляя жизнедеятельность микроорганизмов, которые развивались на питательной среде и способствовали некоторому угнетению дрозофил.

Исследования на мышах показали, что эндогенный сернистый газ играет роль в предотвращении повреждения лёгких, уменьшает образование свободных радикалов, оксидативный стресс и воспаление в лёгочной ткани, в то время как экспериментальное повреждение лёгких, вызываемое олеиновой кислотой, сопровождается, наоборот, снижением образования сернистого газа и активности опосредуемых им

внутриклеточных путей и повышением образования свободных радикалов и уровня оксидативного стресса. Что ещё более важно, блокада фермента, способствующего образованию эндогенного сернистого газа, в эксперименте способствовала усилению повреждения лёгких, оксидативного стресса и воспаления, и активации апоптоза клеток лёгочной ткани. И напротив, обогащение организма подопытных животных серосодержащими соединениями, такими, как глутатион и ацетилцистеин, служащими источниками эндогенного сернистого газа, приводило не только к повышению содержания эндогенного сернистого газа, но и к уменьшению образования свободных радикалов, оксидативного стресса, воспаления и апоптоза клеток лёгочной ткани [6].

Заключение

Итак, в ходе работы нами были решены поставленные задачи и достигнута цель. Теоретически рассмотрены и разобраны основные вопросы темы. Осуществлён долгосрочный эксперимент и успешно обработаны полученные данные.

В результате реализации проектной деятельности были сделаны следующие **выводы**:

1. По литературным источникам установлена связь центрального понятия данной работы – ПЖ, с другими понятиями, такими как жизнь и старение. Последнее на данный момент в науке дискутируется, продолжается поиск первопричин и механизмов этого процесса.
2. Исследование показало, что диоксид серы, используемый для окуливания овощехранилищ и складов от насекомых, в определённой концентрации может увеличить ПЖ дрозофил.
3. Средняя ПЖ мух линии Canton S в контроле составила 49 ± 1.2 суток, в то время как при обработке диоксидом серы (сжигание $0,0086\text{г}$) составила 58 ± 1.3 суток. Минимальная и максимальная ПЖ у контроля составила 8 и 70 суток, а у опытной группы 20 и 83 дня.
4. График ПЖ представляет собой и в опыте, и в контроле S-образную кривую, из неё следует, что примерно на 27 сутки наблюдалось резкое увеличение смертности мух, которое продолжалось до 54 суток. После этого следовало дожитие небольшого числа особей, сроки дожития заметно различались.

В дальнейшем, исследования по теме данной работы можно продолжить. Для получения более качественной информации, необходимо проводить учёт погибших особей ежедневно.

Список литературы

- 1) Акимов, В.С. Диоксид серы и основные источники загрязнения атмосферы диоксидом серы [Текст] / В.С. Акимов // Научный журнал. – 2017. – № 6-1 (19). – С. 18-20.
- 2) Анисимов, В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2 Т. [Текст] / В.Н. Анисимов – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Наука, 2008. – Т.1. – 481 с.
- 3) Биология: справочник [Текст] / Н. В. Чебышев, Гузикова Г.С., Лазарева Ю.Б., Ларина С.Н. – ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 608 с.
- 4) Биология старения (Руководство по физиологии). — Л. : Наука , 1982. — 160 с.
- 5) Москалёв, А.А. Старение и гены. [Текст] / А.А. Москалёв. – СПб.: Наука, 2008. –358 с.
- 6) Сукманский, О.И. Газотрансммиттеры: физиологическая роль и участие в патогенезе заболеваний [Текст] / О.И. Сукманский, В.П. Реутов // Успехи физиологических наук. – 2016. – Т. 47. – № 3. – С. 30-58.
- 7) Трубицын, А.Г. Объединенная теория старения [Текст] / А.Г. Трубицын // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25. – № 4. – С. 563-582.
- 8) Чаплинская, Е.В. Старение: теории и генетические аспекты: учеб-метод. пособие [Текст] / Е.В. Чаплинская, В.Э. Бутвиловский. – Минск: БГМУ, 2014. – 74 с.