

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗРАСТНОЙ РЕАКЦИИ НА УМЕРЕННЫЕ СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

А.И. Михальский¹, D. Wu², A.I. Yashin², T.E. Johnson³

¹ Институт проблем управления РАН, Москва, Россия; e-mail: mpoctok@ya.ru

² Center for Population Health and Aging, Duke University, Durham, USA;
e-mail: aiy@duke.edu

³ Department of Integrative Physiology, University of Colorado at Boulder,
Boulder, USA

Введение

Связь стресса с феноменом старения общепризнанна [1]. Под стрессом понимают комплекс неспецифических приспособительных реакций на сильное воздействие различной природы. Эти реакции направлены на мобилизацию энергетических и пластических ресурсов организма в ответ на внешнее воздействие. В основе дожития до старшего возраста и стрессоустойчивости лежит повышенная жизнеспособность и адаптационная эффективность, которые, в свою очередь, определяются эффективностью функционирования гомеостаза, эффективностью протекающих в организме метаболических и энергетических реакций [4]. В результате эволюционного развития совершенствовались механизмы противодействия как внутреннему, возникающему в результате жизнедеятельности, так и внешнему со стороны окружающей среды стрессу, приводя к формированию как видовой продолжительности жизни, так и стрессоустойчивости [10].

Экспериментальное подтверждение увеличения продолжительности жизни вместе с повышением стрессоустойчивости получено для различных организмов. Выявлены мутации дрожжей, увеличивающие устойчивость к оксидантам и продолжительность жизни [6]. Описано увеличение продолжительности жизни у генетически модифицированных червей *C. elegans*, имеющих повышенную термоустойчивость [8]. Мутанты мухи *Drosophila* демонстрируют одновременно и повышенную стрессоустойчивость, и увеличенную продолжительность жизни [13]. Высокая положительная корреляция между стрессоустойчивостью и продолжительностью жизни дает основания считать, что те же самые механизмы, которые защищают клетки от стресса, могут защитить клетки и от повреждений, вызванных старением [9].

В зависимости от характера и уровня результат стрессового воздействия может быть как негативным, так и позитивным. Применительно к анализу выживания это выражается в увеличении продолжительности жизни по сравнению с контролем в группе

животных, подвергшихся умеренному стрессу, который приводит к сокращению продолжительности жизни, если применяется в большей степени. Уровень стрессового воздействия может измеряться длительностью стрессового воздействия, величиной температуры, уровнем влажности, дозой радиационного воздействия и т.д. Положительное действие стресса получило название *гормезис* [2]. Эксперименты по изучению влияния внешних условий на стрессоустойчивость и продолжительность жизни лабораторных животных проводятся на червях, мухах, мышах, однако лишь ограниченное число математических моделей было предложено для описания явления гормезиса [5, 7, 14].

Данные

В работе использованы результаты стрессовых экспериментов с нематодами *C. elegans* линии TJ375, которые проводились по следующей схеме [14]. Черви выращивались при температуре 20 °С, в первый день взрослой жизни формировались шесть групп: контрольная, не подвергающаяся нагреванию, и пять групп, подвергавшиеся нагреванию до температуры 35 °С в различном возрасте с первого до 13-го дня. В табл. 1 представлена информация о числе животных в каждой группе, дне и длительности нагревания. После нагревания черви возвращались в среду при температуре 20 °С. Каждый день подсчитывалось число живых и умерших животных в каждой из групп. Средняя продолжительность жизни и среднеквадратичное отклонение для этой оценки приведены в двух последних столбцах табл. 1.

В таблице видно, что многократное непродолжительное нагревание до температуры 35 °С статистически значимо увеличивает среднюю продолжительность жизни нематод.

Таблица 1

Число животных, режимы нагревания и средняя продолжительность жизни в различных экспериментальных группах *C. elegans*

Группа	Число животных	День 1	День 4	День 7	День 10	День 13	Средняя продолжительность жизни (дни)	Среднеквадратичное отклонение (дни)
Контроль	305	---	---	---	---	---	18.5	0.2
№ 1	286	1 час	---	---	---	---	21.4	0.3
№ 2	292	1 час	55 мин.	---	---	---	23.2	0.3
№ 3	307	1 час	55 мин.	50 мин.	---	---	24.4	0.3
№ 4	348	1 час	55 мин.	50 мин.	40 мин.	---	25.4	0.3
№ 5	306	1 час	55 мин.	50 мин.	40 мин.	30 мин.	26.1	0.4

Методы

Изучение влияния термического стресса на продолжительность жизни нематод проводилось с использованием двухфазной модели дожития [3, 7]. Функция дожития в возрасте x при использовании двухфазной модели имеет вид

$$S(x) = \begin{cases} \exp(-H(x, \varepsilon_0)) & x < x^* \\ \exp(-H(x^*, \varepsilon_0)) - \exp(-H(x - x^*, \varepsilon_1)) & x \geq x^* \end{cases} \quad (1)$$

где $H(x, \varepsilon)$ – кумулятивный риск смерти, ε_0 и ε_1 – уровень негативного воздействия, не нейтрализованного системами защиты, на первой и на второй фазах соответственно, x^* – возраст переключения уровня защиты.

В соответствии с общей теорией старения Стрелера и Милдвана [12] кумулятивный риск смерти представляется в виде

$$H(x, \varepsilon) = \frac{a}{b} (\exp(bx) - 1) = \frac{K \exp(-V_0 / \varepsilon)}{V_0 B / \varepsilon} (\exp(V_0 B x / \varepsilon) - 1),$$

где V_0 – начальный уровень витальности, B – относительный темп снижения витальности, K – интенсивность возникновения внешнего стрессового воздействия.

Параметры двухфазной модели дожития (1) оценивались отдельно в контрольной и каждой экспериментальной группе по кривым дожития методом наименьших квадратов. Возраст переключения уровня защиты x^* был принят равным 19 дням, поскольку при этой величине получались оценки параметров модели с приемлемой дисперсией, которая определяется числом точек экспериментальной функции дожития, расположенных на каждой из фаз.

Результаты

На рис. 1 показан результат идентификации двухфазной модели дожития (1) в контрольной и экспериментальной группах. На панели А показаны экспериментальные и модельные кривые дожития, на панели Б приведены полученные оценки параметров и для модели Гомпертца для первой и для второй фаз с соответствующими 95% -ными доверительными интервалами.

Из общей теории старения Стрелера и Милдвана следует, что при неизменных свойствах организма должно выполняться соотношение между параметрами b и $\ln(a)$ модели Гомпертца, называемое корреляцией Стрелера-Милдвана, $\ln(a) = \ln K - b / B$ [2]. На рис. 2 приведены оценки параметров b и $\ln(a)$ для первой и второй

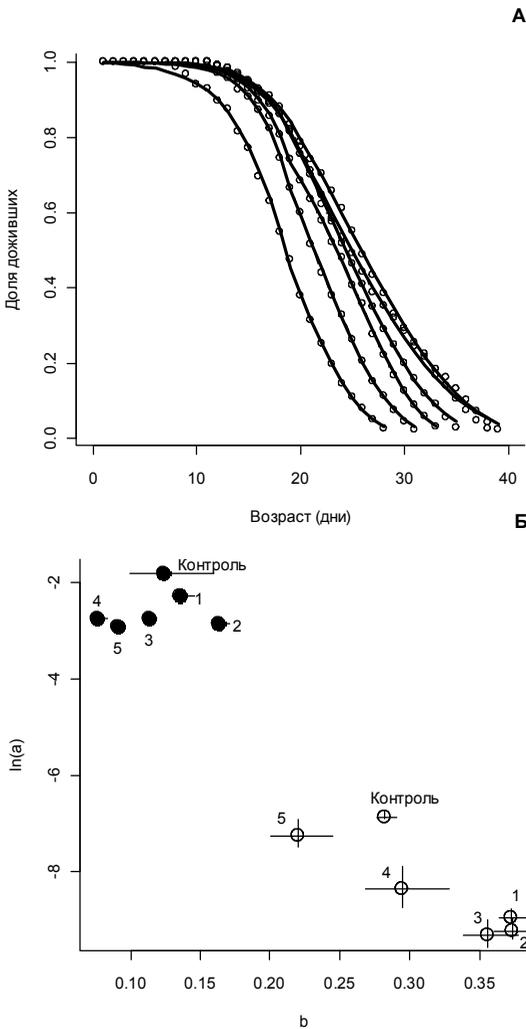


Рис. 1. Экспериментальные (o) и модельные (сплошные линии) кривые дожития (А) и оценки параметров b и $\ln(a)$ для модели Гомпертца для первой (o) и второй (●) фаз (Б).

Примечания. Возле точек проставлены числа, соответствующие числу нагреваний нематод. Оценки в контрольной группе отмечены словом «Контроль». Для оценок параметров b и $\ln(a)$ приведены 95%-ные доверительные интервалы.

А фаз в экспериментах с нематодами с указанием наблюдаемых линейных зависимостей между оценками параметров в различных экспериментах. В табл. 2 приведены параметры зависимостей, соответствующих корреляции Стрелера-Милдвана для каждой из двух фаз в различных экспериментах.

Из рис. 2 и табл. 2 видно, что параметры кривой дожития Гомпертца в контрольной группе и при нагревании не более двух раз и для первой, и для второй фаз жизни нематод хорошо ложатся на почти параллельные прямые. При нагревании более двух раз параметры кривой дожития Гомпертца на первой фазе ложатся на прямую линию, имеющую меньший наклон, чем прямая линия, соответствующая первой фазе для контрольной группы и групп, подвергшихся нагреванию до двух раз. При нагревании более двух раз зависимость параметра $\ln(a)$ от параметра b на второй фазе жизни практически исчезает.

Обсуждение

В рамках теории Стрелера-Милдвана перемещение точки на плоскости с координатами b , $\ln(a)$ по прямой линии соответствует изменению продолжительности жизни при изменении уровня негативного воздействия, не нейтрализованного защитными системами организма. Сам же организм при этом не изменяет своей способности к выживанию и, в частности, темпа снижения витальности с возрастом.

По указанной причине в контрольной и группах животных, подвергшихся нагреванию на первый, а также на первый и четвертый дни жизни, стимуляция защитных сил организма в результате умеренного теплового стресса – гормезиса – повышает уровень защиты организма от внешнего негативного воздействия на первой и второй фазе, не изменяя, однако, способности организма к выживанию. В результате наблюдается увеличение продолжительности жизни нематод, а параметры кривых дожития для первой и второй фаз располагаются на почти параллельных прямых. Эти две прямые не сливаются в одну, поскольку интенсивность стрессового воздействия, не нейтрализованного системой защиты организма на второй фазе жизни и отвечающая за смещение прямой, возрастает в силу параметрического возрастного дрейфа параметров организма [3, 7].

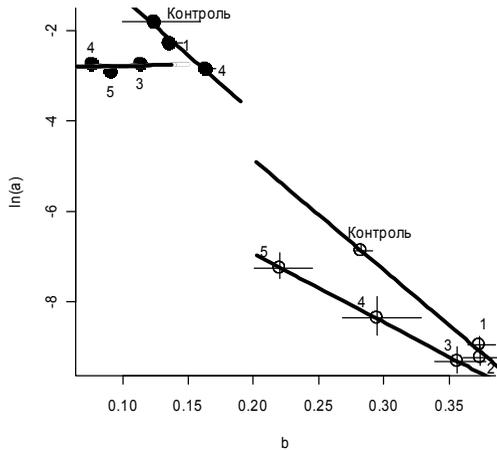


Рис. 2. Оценки параметров модели Гомпертца для первой (○) и второй (●) фаз с соответствующими 95%-ными доверительными интервалами и линейными корреляциями.

Таблица 2

Параметры прямых, соответствующих «корреляциям Стрелера-Милдвана» на различных фазах жизни нематод в контрольной и экспериментальных группах

Число нагреваний	$\ln K$ на первой фазе	$1/B$ на первой фазе	$\ln K$ на второй фазе	$1/B$ на второй фазе
Контроль, 1, 2	0.1	24.6	1.3	25.4
3, 4, 5	-3.9	15.2	-2.8	0.7

При более чем двукратном нагревании на первой фазе жизни *C. elegans* происходит дальнейшая стимуляция системы защиты, что приводит, с одной стороны, к снижению интенсивности стрессового воздействия K , не нейтрализованного системой защиты и достигающего организм, а с другой стороны, к заметному увеличению выработки побочных вредных продуктов, увеличивая скорость падения витальности B . В результате параметры кривой дожития ложатся на более пологую прямую, чем при одно- или двукратном нагревании. На второй фазе жизни *C. elegans* при более чем двукратном нагревании в результате переключения уровня защиты формируется значение параметра кривой дожития Гомпертца a , слабо зависящее от значения параметра b . Возможное объяснение наблюдаемого эффекта заключается в том, что при высокой концентрации активных форм кислорода организм *C. elegans* переключается с аэробного на анаэробный метаболизм [11]. При этом резко падает продукция побочных активных форм кислорода и параметр начальной смертности α далее не увеличивается, а величина параметра b , по-видимому, изменяется нерегулярно. Полученные результаты уточняют механизм модуляции продолжительности жизни и могут служить ориентиром для постановки новых экспериментов по изучению влияния термического стресса на продолжительность жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: В 2 т. СПб.: Наука, 2008. Т. 1. 481 с.; Т. 2. 434 с.
2. Ивановский Ю.А. Радиационный гормезис, радиационная стимуляция и гиперфункциональный эффект ионизирующего облучения // Радиобиология, 1993. Т. 33. С. 760-763.
3. Михальский А.И., Яшин А.И. Биологическая регуляция и продолжительность жизни // Проблемы управления, 2003. № 3. С. 61-65.
4. Новосельцев В.Н. Моделирование естественных технологий организма для исследования процессов управления его жизнедеятельностью // Автоматика и телемеханика, 1992. № 12. С. 96-105.
5. Butov B., Johnson T., Cypser J., Sannikov I., Volkov M., Sehl M., Yashin A.I. Hormesis and debilitation effects in stress experiments using the nematode worm *Caenorhabditis elegans*: the model of balance between cell damage and HSP levels // Exp. Gerontol., 2001. Vol. 37. P. 57-66.
6. Fabrizio P., Pozza F., Pletcher S.D., Gendron C.M., Longo V.D. Regulation of Longevity and Stress Resistance by Sch9 in Yeast // Science, 2001. Vol. 292. P. 288-290.
7. Michalski A.I., Johnson T.E., Cypser J.R., Yashin A.I. Heating stress patterns in *Caenorhabditis elegans* longevity and survivorship // Biogerontology, 2001. Vol. 2. P. 35-44.

8. Munoz M.J. Longevity and heat stress regulation in *Caenorhabditis elegans* // Mech. Ageing Dev., 2003. Vol. 124. P. 43-48.
9. Novoseltsev V. N., Carey J., Liedo P., Novoseltseva J., Yashin A. I. Anticipation of oxidative damage decelerates aging in virgin female medflies: hypothesis tested by statistical modeling // Exp. Gerontol., 2000. Vol. 35. P. 971-987.
10. Parsons P.A. The ecological stress theory of aging and hormesis: an energetic evolutionary model // Biogerontology, 2007. Vol. 8. P. 233-242.
11. Rea S., Johnson T.E. A metabolic model for life span determination in *Caenorhabditis elegans* // Dev. Cell., 2003. Vol. 5. P. 197-203.
12. Strehler B.L., Mildvan A.S. General Theory of Mortality and Aging // Science, 1960. Vol. 132. P. 14-21.
13. Tatar M., Kopelman A., Epstein D., Tu M.-P., Yin C.-M., Garofalo R.S. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function // Science, 2001. Vol. 292. P. 107-110.
14. Wu D., Cypser J.R., Yashin A.I., Johnson T.E. Multiple mild heat-shocks decrease the Gompertz component of mortality in *Caenorhabditis elegans* // Exp. Gerontol., 2009. Vol. 44. P. 607-612.

Modeling of age-related response on multiple mild shocks

A.I. Mikhalski¹, D. Wu², A.I. Yashin², T.E. Johnson³

¹ Institute of Control Sciences of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

² Center for Population Health and Aging, Duke University, Durham, USA

³ Department of Integrative Physiology, University of Colorado at Boulder,
Boulder, USA

Survival of *C.elegans* is investigated in conditions of multiple mild heat stress. A two phases model is used, which is based on the hypothesis of linear decline in vitality with age and a switch of protective antistress forces at the second phase of life after age 19 days. The results of the analysis demonstrate that in the control group and in the two groups, which were heated one and two times, parameters of Gompertz survival curve b and $\ln a$ follow the Streler-Mildvan correlation at both phases. In the groups, heated more than 2 times, parameters of Gompertz survival curve follow the Streler-Mildvan correlation only at the first phase of life. At the second phase of life the logarithm of initial mortality parameter a is practically the same for any number of heatings. It is hypothesized that after more than two heatings at the second phase of life nematods *C. elegans* change mitochondrial metabolic pathways from aerobic respiration to fermentative malate dismutation because of high concentration of reactive oxygen species which are produced as a byproduct of the reactions, stimulated by heating.