

Старение и канцерогенез

В. Н. Анисимов

*Отдел канцерогенеза и онкогеронтологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий,
Песочный-2, Санкт-Петербург*

Введение: Гипотезы о взаимосвязи рака и старения

Рак является одной из наиболее частых причин инвалидности и смерти у пожилых: более половины всех злокачественных новообразований выявляется у лиц старше 70 лет (Parkin et al., 2001; Dix, 2003; Напалков, 2004). Однако до настоящего времени характер взаимоотношений между старением и раком во многом остается неясным, как и не выяснены механизмы возрастного увеличения частоты опухолей. Существуют две основные гипотезы на этот счет. Согласно первой из них, возрастное увеличение частоты рака является следствием длительного воздействия канцерогенных факторов. Другими словами, необходимо время (часто годы) для последовательных превращений клетки из нормальной в трансформированную, и поэтому естественно, что он чаще наблюдается в пожилом возрасте (Peto et al., 1985). По оценке этих авторов, частота рака находится в степенной зависимости от длительности экспозиции к канцерогенам, а не от возраста заболевшего. Этому соответствует образное выражение Л. М. Шабада: «Время восполняет дозу». J. Peto (2001) отметил, что данные эпидемиологических и экспериментальных исследований свидетельствуют в пользу той точки зрения, что старение организма само по себе играет небольшую роль или не играет ни какой роли в канцерогенезе. В статье, полемически озаглавленной «Нет такого явления как старение», R. Peto и R. Doll (1997) подчеркнули, что признание того факта, что многочисленные заболевания, включая рак, обычно развиваются в определенный период жизни, еще не доказывает ни того, что эти заболевания имеют какой-то один общий механизм, ни того, что какое-то единичное универсальное изменение, которое и можно будет назвать «старение», просто еще не открыто. Следует иметь в виду, что рак происходит как клон из одной поврежденной клетки, тогда как старению подвержены все ткани организма.

Согласно второй гипотезе, изменения, развивающиеся по мере старения во внутренней среде организма, способствуют инициации новых опухолей и росту уже существующих, но латентных (дрем-

лющих) трансформированных клеток (Anisimov, 1983, 1987, 2004; Miller, 1991, 1993; Dilman, 1994; Rubin, 2001). Эти механизмы включают клеточное (репликативное) старение, поскольку стареющие клетки становятся резистентными к апоптозу и продуцируют ряд факторов, которые стимулируют рост эпителиальных клеток, несущих опухолевые мутации (Krtolica and Campisi, 2003). Полагают, что предрасполагающий к раку фенотип пожилых людей может отражать комбинированное действие кумулятивной мутационной нагрузки, нарастания эпигенетически обусловленного функционального «молчания» генов, дисфункции теломер и нарушения гомеостаза стромы (DePinho, 2000). DePinho (2000) указывает, что возрастная дисфункция теломер может быть ведущей среди нескольких механизмов, определяющих канцерогенез в эпителиальных тканях человека. Его модель хорошо согласуется с известными данными о механизмах активации теломеразы и о роли генетических нарушений на различных стадиях многостадийного процесса канцерогенеза у человека, особенно в молочной железе и толстой кишке. Serrano и Blasco (2007) подчеркивают роль конвергентных и дивергентных механизмов во взаимоотношениях между старением и раком. Очевидно, что выяснение причин возрастного увеличения частоты опухолей, возможно, даст ключ к разработке стратегии первичной профилактики злокачественных новообразований.

Возрастное увеличение частоты спонтанных опухолей

Хорошо известно, что частота злокачественных новообразований увеличивается с возрастом как у животных, так и у человека (Anisimov, 1987, 2003; Dix and Cohen, 1999; Parkin et al., 2001; Dix, 2003). Термин «спонтанные» опухоли может иногда вводить в заблуждение, поскольку большинство новообразований человека обусловлено воздействием факторов окружающей среды, таких как курение табака, употребление алкоголя, отходы производства, лекарства и онкогенные вирусы, а также особенностями диеты и половой жизни. В опытах с лабораторными животными спонтанными опухолями принято считать но-

вообразования, развившиеся без какого-либо специального воздействия экзогенного канцерогена.

Общая частота рака увеличивается с возрастом, но характер его возрастного распределения не одинаков для различных локализаций и типов новообразований. У животных частота опухолей контролируется генетически и зависит от их вида и линии (Anisimov, 1987). Так, у 80-90% мышей AKR в возрасте 7-10 мес. развиваются лейкозы, тогда как у мышей линии А в возрасте 18 мес с такой же частотой возникают аденомы легких. В 14-мес возрасте у самцов мышей линии СЗН в 90% случаев выявляются гепатомы, тогда как у 90% самок этой линии в возрасте 18 мес аденокарциномы молочной железы. У крыс некоторых линий опухоли желез внутренней секреции развиваются в 80-85% случаев. У человека 80% всех опухолей диагностируют после 50 лет. В экономически развитых странах увеличение частоты рака таких локализаций, как легкие, предстательная железа, толстая кишка, желудок и мочевого пузыря, растет с возрастом практически экспоненциально. Полагают, что их возникновение связано с длительным воздействием внешних канцерогенных факторов, таких как курение табака или инфекция (*Helicobacter pylori* и др.) (Anisimov et al., 2005). Частота рака может увеличиваться линейно и/или уменьшаться с возрастом, что характерно для суммарной частоты всех видов рака у женщин, а также для таких менее часто встречающихся новообразований как меланома кожи и рак щитовидной железы. Для гормонозависимых опухолей у женщин (рак молочной железы и яичников) характерен волнообразный характер возрастной распределения с пиком в возрасте около 65 лет и последующим снижением.

Dix et al. (1980) разделили все опухоли человека на 2 класса. К первому были отнесены опухоли, имеющие один пик частоты после 50 лет. К этому классу принадлежит большинство новообразований. Ко второму классу были отнесены опухоли, имеющие два пика частоты — один до 35 лет и второй после 50 лет. К этому классу отнесены острый лимфолейкоз, остеосаркома и болезнь Ходжкина. Взаимосвязь возраста и доброкачественных опухолей изучена недостаточно, хотя доброкачественные неоплазии встречаются гораздо чаще злокачественных. К сожалению, довольно немногочисленны данные о возрастном распределении опухолей разного гистогенеза в одном и том же органе. Например, эпителиальные карциномы яичников крайне редки у женщин до 15 лет, тогда как герминогенные карциномы у них встречаются наиболее часто. Противоположная картина наблюдается у женщин после 40 лет (Anisimov, 1987).

Установлено, что частота опухолей уменьшается в самых старших возрастных группах у самцов и самок мышей (Pompei et al., 2001). К такому же выводу привели результаты изучения частоты развития опухолей у мышей, которых содержали на ограниченной по калорийности диете. Эти экспериментальные данные соответствуют наблюдениям о снижении частоты рака у столетних людей (Bordin et al., 1999; Miyashi et al., 2000; Pompei and Wilson, 2001). Умень-

шение частоты рака в самых старших возрастах может быть объяснено на основе представлений о дифференцированном отборе в гетерогенной популяции (Vaupel and Yashin 1985). При этом предполагается, что более слабые индивидуумы погибают раньше, и отбор изменяет структуру популяции, то есть, распределение таких более уязвимых лиц в ней, что приводит к увеличению доли более выносливых, резистентных индивидуумов с увеличением возраста когорты. В результате этого заболеваемость и смертность среди выживших будут уменьшаться в такой гипотетической популяции с начальной гетерогенностью. Этот пример показывает, что отбор может приводить к уменьшению частоты развития новообразований в старческом возрасте вне зависимости от возрастных изменений индивидуальной чувствительности к раку. С.В. Украинцева и А.И. Яшин (Ukrainitseva and Yashin, 2001) полагают, что изменения, развивающиеся в организме при старении, могут не только способствовать возрастному увеличению частоты развития рака, но также и его снижению. Таким образом, наблюдающиеся различия в характере возрастного распределения опухолей различных локализаций позволяют предположить различную возрастную чувствительность разных тканей к канцерогенным факторам.

Чувствительность к канцерогенам в разном возрасте

Результаты экспериментов на животных свидетельствуют о том, что во многих тканях чувствительность к канцерогенам с возрастом существенно изменяется. Так, у старых животных чувствительность к действию канцерогенов снижена в эпителии молочной железы, тонкой и толстой кишки, тиреоидном эпителии и фолликулярном эпителии яичников, в подкожной клетчатке, шейке матки, во влагалище она повышена, тогда как в легких и кроветворной ткани она с возрастом не меняется (Анисимов, 1989; Anisimov, 1983, 1987, 2004; Рак у пожилых, 2005).

Иногда тканевые различия в возрастной динамике чувствительности к канцерогенам удается наблюдать в одном эксперименте. Так, у самок крыс, которым в возрасте 3 мес. однократно внутривенно вводили N-нитрозометилмочевину (НММ) в дозах 10, 20 или 50 мг/кг, под воздействием канцерогена развивались аденокарциномы молочной железы, опухоли почек, яичников и толстой кишки. Когда же канцероген вводили в тех же дозах 15-мес крысам, то у них с высокой частотой развивались опухоли тела и шейки матки, а опухоли молочной железы, кишечника, яичников и почек развивались много реже, чем у молодых животных (Anisimov, 1988). Сравнение результатов определения степени алкилирования, синтеза и репарации ДНК (по удалению метильной группы в O⁶-положении гуанина), полученных на одном модели, позволило выявить ведущую роль возрастных изменений пролиферативной активности в ткани-мишени в механизме модифицирующего влияния возраста на канцерогенез (Anisimov, 1987, 1998). Этот вывод соответствует наблюдениям о важной роли

пролиферативных процессов в процессах репарации и мутагенеза в клетке. В то же время, установлено отсутствие единообразия в возрастных изменениях синтеза ДНК и ее репарации, а также пролиферативной активности в различных тканях (Anisimov, 1987, 1998). Активирующие протоонкоген *H-ras* мутации G35!A35 выявлялись в карциномах молочной железы, индуцированных введением НММ в возрасте 2 мес., но отсутствовали в опухолях крыс, которым канцероген вводили в возрасте 15 мес. (Thompson et al., 2000). Итак, возраст в момент воздействия канцерогена играет критическую роль как в чувствительности молочного эпителия к нему, так и в молекулярных событиях, которые участвуют в развитии рака молочной железы.

Следует отметить, что существуют и другие причины широкой вариабельности результатов экспериментальных исследований с введением канцеро-

генов животным разного возраста. Их можно определить как факторы, связанные с особенностями экспериментальной модели, и факторы, определяемые особенностями организма. К первой группе можно отнести различия в типе использованных канцерогенных агентов (прямое или не прямое действие, различия в химической структуре и механизме действия), в способах введения, в длительности воздействия (однократное, курсовое или хроническое введение), в таком свойстве канцерогенного агента, как его местное или системное действие, во время наблюдения за животными после воздействия. Среди факторов организма, модифицирующих чувствительность к канцерогену, следует отметить вид животных, линию, пол и возраст, в котором вводился канцероген.

В таблице 1 суммированы данные о возрастной динамике некоторых факторов, ответственных за скорость проникновения различных веществ в орга-

Таблица 1. Возрастные изменения в организме, модифицирующие фармакокинетику ксенобиотиков (Анисимов, 2003)

Параметр	Эффект старения
Толщина эпидермиса	Уменьшение
Проницаемость кожи	Увеличение
Жизненная емкость легких	Уменьшение
Вентиляционная способность легких	Уменьшение
Скорость абсорбции в желудочно-кишечном тракте	Уменьшение
Кишечная абсорбция	=
Эвакуаторная функция кишечника	Уменьшение
Сывороточный альбумин	Уменьшение
Количество жира в теле	Увеличение
Печеночный кровоток	Уменьшение
Клубочковая фильтрация	Уменьшение
Почечный клиренс	Уменьшение

Таблица 2. Влияние возраста на активность ферментов, метаболизирующих канцерогены в печени самцов крыс (Анисимов, 2003)

Фермент	Возрастные группы, месяцы	Эффект старения
Цитохром P-450	3-6 и 27	Уменьшение
Цитохром b ₅	3-6 и 25	=
НАДФН-цитохроом с редуктаза	3 и 24	Уменьшение
Этилморфин-N-деметилаза	16 и 27	Уменьшение
Аминопирин-N-деметилаза	6 и 25	=
Бензфетамин-N-деметилаза	3, 12 и 27	Уменьшение
Нитрофенол-N-деметилаза	3-5 и 14	Увеличение
Эпоксид-гидраза	3, 12 и 27	Увеличение
Бензо[а]пирен гироксилаза	3, 12 и 27	Уменьшение
Глютатион-S-трансфераза	4-5 и 24	Уменьшение
o-Глюкуронил-трансфераза	4, 5 и 23	Уменьшение
p-Глюкуронил-трансфераза	4, 5 и 23	Увеличение
Бета-глюкуронидаза	2 и 9	Увеличение
Арил-сульфатаза А и В	3 и 24	Уменьшение

низм, их распределение и скорость их удаления из организма. Можно видеть, что наблюдаемые по мере старения изменения неоднозначны и могут существенно модифицировать эффект того или иного фармакологического средства или токсического агента.

Эффективная доза канцерогена непрямого действия, требующего метаболической активации в печени, может существенно различаться у молодого и старого животного, поскольку активность ферментов, необходимых для активации канцерогена в печени и других тканях, может существенно изменяться с возрастом (Anisimov et al., 1987; Анисимов, 2003; Mayersohn, 1994) (таблица 2).

Критическую роль, определяющую чувствительность тканей к канцерогенам, играют синтез ДНК и пролиферативная активность ткани в момент воздействия канцерогена, а также эффективность репарации поврежденной канцерогеном ДНК. Имеющиеся данные по этому вопросу довольно многочисленны и неоднократно обсуждались в литературе (Anisimov, 1987, 2004; Hanahan and Weinberg, 2000). Гомеостатическая регуляция постоянства числа клеток в нормальных тканях отражает точное равновесие между клеточной пролиферацией и клеточной гибелью. Программированная клеточная гибель (апоптоз) является защитным механизмом, поскольку удаляет поврежденные клетки, которые потенциально могут либо нормально функционировать, либо подвергаться злокачественной трансформации (Evan and Littlewood, 1998; Hanahan and Weinberg, 2000; Имянитов, Хансон, 2007). Апоптоз играет существенную роль во многих других проявлениях старения и рака, включая контроль продолжительности жизни большинства участников иммунных реакций и скорость роста опухолей. Супрессорный ген *p53*, участвующий в регуляции апоптоза, рассматривается как «охраняющий» механизм, предупреждающий индуцированную онкогенами пролиферацию клетки (Kinzler and Vogelstein, 1997).

Таким образом, возрастные факторы, определяющие чувствительность к канцерогенам, в значительной мере тканеспецифичны (Anisimov, 1987, 2005). Этот вывод может объяснить, по крайней мере частично, возрастные изменения в чувствительности и ее вариабельность в определенной ткани-мишени, а также органную и тканевую вариабельность в возрастном распределении частоты спонтанных опухолей.

Старение и многостадийная модель канцерогенеза

Процесс канцерогенеза, как и процесс старения, сопровождается повреждениями генома, которые могут действовать синергично, способствуя развитию рака (Hanahan and Weinberg, 2000; Vijg, 2000; Luzatto, 2001; Anisimov, 2005). Среди этих нарушений ключевую роль играют три развивающихся с возрастом изменения в ДНК: нестабильность генома, гипометилирование ДНК и образование аддуктов ДНК.

Нестабильность генома возникает при активации генов, таких как клеточные протоонкогены, кото-

рые в норме супрессированы, и/или при инактивации опухолевых супрессорных генов (*p53*, *Rb* и некоторых других) (Kinzler and Vogelstein, 1997; Hanahan and Weinberg, 2000; Имянитов, Хансон, 2007). Гипометилирование ДНК — характерная черта как трансформированных клеток, как и старения. Являясь одним из потенциальных механизмов активации онкогенов, гипометилирование может приводить к спонтанному деаминированию цитозина и к последующей транзиции пар оснований, то есть, замене пары тимин:аденин. Накопление несоответствующих пар оснований, приводя к активации клеточных протоонкогенов, может быть причиной опухолевой трансформации (Hanahan and Weinberg, 2000). Возрастные нарушения обмена ДНК могут быть ткане- и геноспецифичными. Так, гипометилирование протоонкогена *stmс* было обнаружено в гепатоцитах, но отсутствовало в нейронах старых мышей. Даже в пределах одной клетки различные сегменты ДНК могут в разной степени подвергаться гипометилированию при старении. Неравномерное распределение гипометилирования может приводить к избирательной избыточной экспрессии протоонкогенов старой клеткой. Например, транскрипция *stmс* прогрессивно увеличивалась с возрастом в печени, но не в мозге крыс между 4-м и 22-м месяцами жизни, тогда как транскрипция *сsis* и *сsrc* не изменялась с возрастом ни в одной из изученных тканей (Matoha et al., 1987; Ono et al., 1993). Различная степень повреждения ДНК в разных тканях при старении может определять, по крайней мере частично, различия в чувствительности этих тканей к канцерогенам (Anisimov, 2004, 2005).

Считается, что повреждения ДНК, вызываемые эндогенными активными формами кислорода (АФК), вносят основной вклад в развитие процессов старения и канцерогенеза (Shigenaga et al., 1994; Лю, 2003). Установлено, что степень эндогенного окислительного повреждения липидов и белков увеличивается с возрастом (Ames et al., 1993). АФК вызывают мутации, активирующие протоонкоген *сНaras* человека (Du et al., 1994). Концентрация окисленного нуклеотида 8гидрокси-2'-дезоксигуанозина в ДНК увеличивается с возрастом в печени, почках и кишке, но остается неизменной в мозге и яичках крыс, при этом экскреция его с мочой с возрастом уменьшается (Лю, 2003).

Имеются многочисленные доказательства накопления с возрастом спонтанных мутаций в соматических и половых клетках (Vijg, 2000; Vijg and Dolle, 2006). Этот процесс может приводить к нестабильности генома и, следовательно, увеличивать чувствительность к действию канцерогенов и опухолевых промоторов. Клонально распространяющиеся мутации митохондриальной ДНК (мтДНК) накапливаются при старении как в нормальных тканях, так и в опухолях человека. Наблюдения, что в мышечной ткани человека с возрастом накапливаются делеции мтДНК и происходит ее частичное удвоение, позволяют предполагать важную роль клональной экспансии мутантной мтДНК в развитии при старении системного окислительного стресса в организме в целом. Была

обнаружена существенная тенденция к увеличению с возрастом частоты мутаций в онкогене *p53* в различных тканях и опухолях. Simpson (1997) полагает, что в теле пожилых людей происходит отбор предсуществующих мутаций, что способствует накоплению достаточного количества мутаций для запуска многостадийного процесса канцерогенеза. Указывают, что в развитие опухоли вносят свой вклад как генетические особенности отобранных клеточных клонов, так и эпигенетические особенности окружающей среды (Chow and Rubin, 2000).

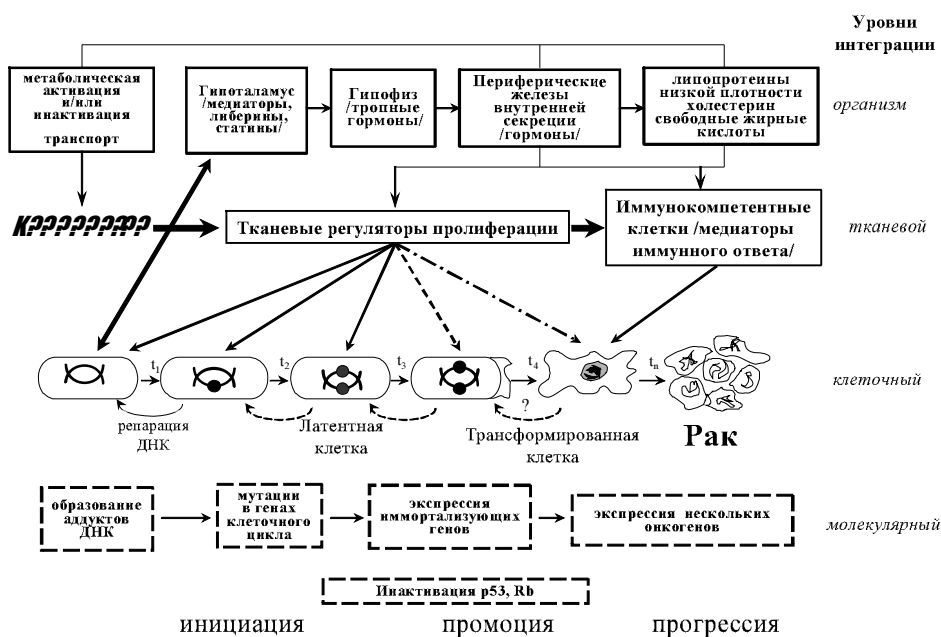
Потомки 25-месячных самцов крыс, спаренных с 3-месячными самками, имели большую чувствительность к канцерогенному действию НММ по сравнению с потомством молодых самцов и самок (Anisimov and Gvardina, 1995). Используя материалы базы данных Шведского ракового регистра для анализа влияния возраста отца на частоту рака у потомства в возрасте 15-53 лет, Hemminki и Кууронен (1999) установили, что больший возраст отца увеличивает риск развития спорадических опухолей нервной системы на 15%, тогда как возраст матери имеет значение в развитии меланомы и лейкозов, проявляясь 30%-ным увеличением их риска в случаях, когда матери были старше 40 лет, в сравнении с потомством матерей, которые были моложе 20 лет. Предполагается, что накопление хромосомных aberrаций и мутаций в половых клетках ответственно за развитие опухолей у потомства (Hemminki, Кууронен, 1999). Выявлено 3-кратное превышение риска развития ретинобластомы у детей, отцам которых было 45 лет и более, в сравнении с потомством более молодых отцов (Dockerty et al., 2001). В этом же исследовании представлены данные, свидетельствующие о том, что

риск острого лимфолейкоза существенно увеличен у детей, чьи родители были старше, и была выявлена отчетливая положительная тенденция к увеличению риска рака при увеличении возраста отца и матери. Было обнаружено, что у людей частота новых доминантных мутаций увеличивается экспоненциально с увеличением возраста отца, но не матери (Risch et al., 1987).

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что ряд возрастных изменений в структуре и функции ДНК вовлечен в процесс естественного старения. Характер этих изменений может различаться в разных тканях, что определяет неравномерность скорости их старения. Dolle et al. (2002), используя трансгенных мышей со встроенным шаттл-вектором *lacZ*, определили спектр спонтанных точковых мутаций в различных органах молодых и старых животных. В то время как спектр мутаций был одинаков в органах молодых мышей, у старых животных он существенно различался. Авторы подчеркивают, что сама по себе репликативная история тканей не является причиной органоспецифичных различий спектра мутаций в старческом возрасте. Скорее, различия в функции органов, связанные с их репликативной историей, могут приводить к расхождениям в спектре мутаций в процессе старения. Это, в свою очередь, может объяснить как возрастное увеличение частоты спонтанных опухолей, так и возрастные изменения в чувствительности разных органов к канцерогенным агентам.

Канцерогенез — многостадийный процесс, в течение которого нормальная стволовая клетка проходит последовательно несколько стадий, прежде чем станет полностью злокачественной (Ponten, 2001; Reya

Рис. 1. Интегральная схема канцерогенеза [Anisimov, 1998]



et al., 2001; Schlessinger and Van Zant, 2001). Многостадийный канцерогенез сопровождается многообразными нарушениями тканевого гомеостаза и нарушениями в нервной, эндокринной и иммунной системах, которые угнетают противоопухолевую резистентность организма. Развитие этих нарушений зависит от чувствительности различных систем к действию канцерогенов и от дозы канцерогена. Изменения в микроокружении поврежденной клетки играют ключевую роль в канцерогенезе, определяют длительность каждой стадии канцерогенеза и, при некоторых условиях, могут даже вызывать обратное развитие опухолевого процесса. В конечном счете, изменения в микроокружении оказывают решающее влияние на скорость пролиферации трансформированных клеток, общую длительность канцерогенеза и, соответственно, латентный период развития опухоли (рис. 1).

Взаимодействие между мезенхимой и эпителием ведущий фактор дифференцировки и развития (Liotta and Kohn, 2001). Установлено, что изменения в поведении стромы может оказывать промотирующее влияние на опухолевую трансформацию эпителиальных клеток канцерогенез (Krtolica and Campisi, 2003). К специфическим медиаторам возрастных изменений во взаимоотношениях клеток стромы и эпителия относят интерлейкин-1, трансформирующий фактор роста α , ростовые факторы кератиноцитов и гепатоцитов, фактор, происходящий из клона 1 пигментного эпителия на ранних стадиях удвоения (PEDF/EPC-1), принадлежащий к семейству ингибиторов сериновых протеаз.

Есть основания полагать, что с возрастом в тканях организма происходит накопление клеток, которые находятся на поздних стадиях многостадийного процесса канцерогенеза. Об этом свидетельствуют результаты многих экспериментов. Так, при однократной аппликации ДМБА в дозах от 10 до 300 мкг на кожу 8- или 48-недельных мышей наблюдалось увеличение частоты развития папиллом у более старых животных (Stenback et al., 1981). У них опухоли достигали больших размеров. Частота развития папиллом кожи после смазывания ее 12-О-тетрадеканойлформил-13-ацетатом (ТФА) была в 6 раз выше у 14-мес. мышей в сравнении с 4-месячными (Stenback et al., 1981). Большой интерес представляют результаты опытов с реципрокной пересадкой кожных лоскутов. Нанесение ТФА на трансплантат кожи от 2-мес. доноров реципиентам разного возраста не вызывало у них развития опухолей. Однако опухоли кожи возникали с одинаковой частотой, когда ТФА наносился на лоскуты годовалых доноров вне зависимости от возраста реципиентов (Ebbesen, 1985). Эти наблюдения убедительно свидетельствуют о том, что только возраст ткани-мишени определяет ее чувствительность к воздействию опухолевых промоторов.

Нанесение кожных ран через 16 недель после аппликации иницирующей дозы канцерогена приводило к более интенсивному развитию опухолей при сравнении с таким же ранением, но произведенным лишь спустя 6 недель после нанесения канцерогена у

молодых мышей (Hennings, Boutwell, 1970). Эти наблюдения согласуются с данными о возрастном снижении эффективности репарации ДНК в коже и увеличении частоты мутаций в антионкогене *p53* по мере увеличения возраста в нормальной коже человека и в базальноклеточных карциномах кожи (Рак у пожилых, 2005). Однако в некоторых исследованиях частота развития папиллом кожи не зависела от возраста, в котором воздействовали канцерогеном и промотором опухолевого роста, или даже снижалась. Имеются данные о снижении репарации повреждений ДНК, индуцируемых ультрафиолетовым облучением (УФО) и о последующем накоплении мутаций в первичных культурах фибробластов кожи от здоровых доноров в возрасте от 0 до 100 лет (Moriwaki et al., 1996). Предполагается, что с возрастом увеличивается количество экспрессирующих теломеразу базальных клеток в коже (Ueda, 2000).

У трансгенных мышей Tg.AC, трансфицированных онкогеном *v-Ha-ras*, частота возникновения папиллом кожи и их множественность была существенно большей при аппликации ТФА, нанесении кожной раны или воздействию УФО-облучения в возрасте 32 недель при сравнении с такими же воздействиями в возрасте 10 недель (Battalora et al., 2001). Авторы полагают, что естественные процессы, происходящие в кератиноцитах при старении, кооперируются с молекулярными механизмами, вызывающими индукцию экспрессии трансгена, тем самым оказывая стимулирующее влияние на развитие опухолей кожи у старых мышей.

О происходящем в тканях возрастном накоплении клеток, которые находятся на поздних стадиях канцерогенеза, свидетельствуют результаты и других опытов. В линиях мышей, высокочувствительных к гепатоканцерогенам, концентрация гепатоцитов, находящихся на последних стадиях канцерогенеза, быстро увеличивается с возрастом (Lee et al., 1989). В печени крыс линии F344 число спонтанных пролиферативных узелков прямо пропорционально возрасту животных (Ward et al., 1988; Kraupp-Grasl et al., 1991). Частота пролиферативных узелков и гепатом, индуцируемых феноталом, четыреххлористым углеродом или веществами, вызывающими пролиферацию пероксисом (клофибрат, нафенопин), была существенно выше, если воздействие начинали у старых животных (Ward, 1983; Ward et al., 1988; Kraupp-Grasl et al., 1991; Youssef et al., 2003). Другая модель была использована для индукции лимфом у мышей, которым вводили взвесь клеток селезенки, тимуса и лимфоузлов от сингенных доноров разного возраста (Ebbesen, 1971). Частота развившихся ретикулосарком была пропорциональна возрасту донора, но не реципиента. Geschickter et al. (1942) наблюдали развитие опухолей молочной железы при введении эстрогенов, начатом в возрасте 1 или 20 месяцев, через 9,5 и 3 месяца, соответственно.

НММ в дозах 10, 20 или 50 мг/кг вводили однократно в вену самкам мышей в возрасте 3 или 15 мес. (Anisimov, 1993). Произведенные в соответствии с многостадийной моделью канцерогенеза расчеты

показали, что число стадий, необходимых для развития злокачественных опухолей при введении канцерогена 15-мес мышам, было меньшим, чем

при воздействии в возрасте 3 мес. В этом опыте, также как и в ряде других с введением

НММ крысам и мышам, опухоли развивались быстрее у старых животных, чем у молодых (Anisimov, 2003, 2004, 2005).

Некоторые эксперименты *in vitro* подтверждают наблюдения, сделанные на животных. Так, воздействие ДМБА вызывало более быстрое появление фокусов трансформации в эпителии мочевого пузыря (на 40-60-й день) и с большей частотой (25%) в эксплантатах старых (28-30 мес.) мышей при сравнении с эксплантатами молодых (5-7 мес) животных, у которых очаги трансформации можно было обнаружить через 100 дней в 0,9% случаев. Случаи спонтанной трансформации эпителия мочевого пузыря наблюдались только в эксплантатах старых мышей. Первичные культуры фибробластов от старых крыс были более чувствительны, чем культуры от молодых, к трансформации, индуцируемой вирусом SV-40. Однако имеются сообщения, что чувствительность к канцерогенам у эксплантатов эпителия трахеи старых животных была меньшей, чем у эксплантатов от молодых животных (Anisimov, 1998). В целом, этим наблюдениям соответствуют данные о происходящем с возрастом накоплении очагов гиперплазии и пролиферации во многих органах и тканях старых животных (таблица 3).

Следует подчеркнуть, что число событий (стадий), необходимых для полной трансформации нормальной стволовой клетки, весьма вариабельно и зависит от скорости старения самой ткани-мишени и систем, ее регулирующих (Anisimov, 1998). Этой мо-

дели соответствуют данные о возрастном распределении частоты опухолей различных локализаций у человека и животных (Anisimov, 1987, 2005; Parkin et al., 2001). Старые животные могут быть вполне адекватной моделью для оценки канцерогенности агентов с предполагаемой невысокой канцерогенной активностью и опухолевых промоторов (Anisimov, 2003, 2004, 2005).

Влияние старения на рост перевиваемых опухолей

Важным аспектом взаимоотношений старения и канцерогенеза является вопрос о роли возрастных изменениях в микроокружении тканей, которые могут как способствовать, так и препятствовать канцерогенезу. Эксперименты с трансплантацией опухолей животным разного возраста позволяют объективно оценить влияние изменений, развивающихся в организме при старении, на рост и прогрессию трансформированных клеток. В том случае, если при старении действительно изменяется микроокружение, в котором развивается опухоль, то скорость роста перевитых опухолей будет варьировать в зависимости от возраста реципиента. Критерии для оценки результатов таких экспериментов должны включать: 1) прививаемость опухоли; 2) скорость роста опухоли; 3) выживаемость животного с привитой опухолью. Такие показатели «естественной истории» развития спонтанных опухолей, как скорость удвоения опухоли, метастатический потенциал и выживаемость пациентов с вновь выявленными новообразованиями в разном возрасте, могут представить важную информацию о влиянии возраста на рост опухолей у человека и животных. Имеющиеся данные по этому вопросу весьма противоречивы как в отношении опухо-

Таблица 3. Органы старых крыс, в которых были обнаружены очаги гиперплазии и пролиферации (Анисимов, 2003)

Орган	Патоморфологические находки
Аорта	Пролиферация миоинтимальных клеток
Легкое	Аденоматозная гиперплазия
Печень	Пролиферация эпителия желчных протоков, очаговая пролиферация гепатоцитов (гамма-глутамилтранспептидаза-положительные очаги)
Почки	Папилломатозная гиперплазия переходного эпителия почечной лоханки
Мочевой пузырь	Гиперплазия эпителия
Гипофиз	Гиперплазия базофильных и хромофобных клеток, гиперплазия средней доли гипофиза
Щитовидная железа	Пролиферация парафолликулярных клеток
Паращитовидная железа	Гиперплазия
Кора надпочечников	Очаговая гиперплазия коры, очаговая гиперплазия медуллярных клеток
Поджелудочная железа	Гиперплазия протоков, ацинусов и островков
Яичники	Фолликулярные кисты, гиперплазия интерстициальной ткани
Матка	Железисто-кистозная гиперплазия и по липы эндометрия
Молочная железа	Гиперплазия альвеолярных очагов, мастопатия
Яички	Гиперплазия интерстициальных клеток
Предстательная железа	Метаплазия эпителия, внутриальвеолярная атипическая гиперплазия
Слюнные железы	Гиперплазия эпителия протоков
Преджелудок	Гиперплазия и гиперкератоз

лей человека, так и в отношении перевиваемых опухолей у лабораторных животных (Anisimov, 1987, 2006; Ershler, 1992; Miller, 1993). В целом, анализ литературных данных свидетельствует о том, что возраст может существенно модифицировать рост опухолей. Ключевым фактором в этом процессе часто оказывается гистогенез опухоли (Anisimov, 2006).

Эпителиальные опухоли росли либо быстрее (2/3 всех эпителиальных опухолей), либо медленнее (1/3) у старых животных, причем, не было закономерности даже в перевиваемых опухолях одного происхождения, например, молочной железы и печени. Вместе с тем, различные фибросаркомы, как правило, росли быстрее у старых животных, хотя были и исключения. Возраст не влиял на развитие перевиваемых гембластозов или ослаблял его (Anisimov, 1987, 2006).

В наших опытах клетки рабдомиосаркомы RA-2, обладающей способностью расти только в легочной ткани, вводили внутривенно крысам разного возраста. Количество опухолевых узлов, развившихся в легких, было максимальным у 1-мес. и 15-мес. крыс, и минимальным у 3- и 12-месячных. Была выявлена положительная корреляция между количеством развившихся в легких колоний опухолевых клеток и от молодых и старых реципиентов перевивали только 3-месячным реципиентам. Количество очагов опухолевого роста в легких у молодых реципиентов существенно снижалось, когда им прививали клетки от старых доноров.

McCullough et al. (1994) обнаружили, что при прививке клеток гепатомы в портальную вену молодых крыс число развившихся узлов и их размеры были меньше, чем при прививке такого же числа клеток гепатомы в портальную вену старых животных. Интересно, что если клетки этой же гепатомы перевивали подкожно молодым и старым крысам, различий в прививаемости и скорости их роста не наблюдалось. Эти наблюдения убедительно свидетельствуют о важной роли микроокружения в ткани-мишени для развития трансформированных клеток.

При анализе результатов опытов с трансплантацией опухолевых клеток животным разного возраста следует учитывать также возможные различия в иммуногенности прививаемых опухолей (Anisimov, 1987, 2006).

Клеточное старение и канцерогенез: роль теломер и теломеразы

Вопрос о соответствии клеточного старения *in vitro* и *in vivo* широко обсуждается в литературе (Rubin, 1997; Анисимов, 2003; Serrano, Blasco, 2007). Этот аспект представляется принципиально важным, поскольку предполагается, что репликативное (клеточное) старение является механизмом, защищающим организм от рака, хотя этот же механизм накопления клеток на последних стадиях из репликативной жизни может быть ответственным за процесс старения и увеличение чувствительности к канцерогенам (Hayflick, 1998; Campisi, 2003, 2005). Следует заметить, что при успешной химиотерапии опухолей у мышей включается программа клеточного старения, контро-

лируемая *p53* and *p16^{INK4a}*, тогда как у мышей с перевиваемыми опухолями, имеющими дефект в механизме клеточного старения, ее эффективность значительно ниже и прогноз существенно хуже (Schmitt, 2003).

Соматические клетки животных некоторых видов (например, рыб) имеют иммортализованный фенотип, однако частота развития опухолей у них не отличается от других видов (Macieira-Coelho, 2001). С другой стороны, существуют как иммортизированные клеточные линии, в которых не удается обнаружить теломеразу, так и стволовые клетки или нормальные соматические клетки, экспрессирующие теломеразу, в которых, тем не менее, при культивировании происходит укорочение теломер.

Чувствительность к вызываемой канцерогенными агентами трансформации клеток на разных стадиях пролиферативного старения различается в зависимости от типа агента. Так, молодые клетки (находящиеся на ранних пассажах) более чувствительны к трансформации химическими канцерогенами и малыми дозами ионизирующей радиации, их чувствительность к действию ультрафиолетового облучения не изменяется на протяжении репликативной жизни фибробластов человека, тогда как чувствительность к опухолевым промоторам, идентичная в течение почти всей репликативной жизни клеток, увеличивается в финальной стадии, когда также достигает максимума чувствительность к трансформирующему действию вируса SV40 (Macieira-Coelho, 1994, 2001).

Фибробласты, полученные от взрослых крыс, были более чувствительны к трансформации, индуцируемой онкогеном *v-scr*, чем эмбриональные клетки (Tavoloni and Inoue, 1997). Исследование роли организменных факторов старения в чувствительности первичных клеток *in vitro* к трансформирующему действию SV-LT показало, что она пропорциональна возрасту донора (Kunisada et al., 1990). Онкоген *ras* вызывает обусловленное индукцией *p53* и *p16* преждевременное репликативное старение в первичных культурах клеток грызунов и человека (Serrano et al., 1997). Авторы полагают, что индукция преждевременного клеточного старения в ответ на аномальные митогенные сигналы представляет собой механизм подавления опухолевого роста. Инактивация такого антипролиферативного ответа способствует беспрепятственной пролиферации в присутствии онкогенного стимула. Эти наблюдения позволяют объяснить роль большой мутабельности участвующих в индуцируемом онкогенами клеточном старении генов *p53* и *p16* в процессе опухолевой прогрессии. Индукция клеточного старения активными онкогенами, такими как *ras*, свидетельствует о том, что оно является программированным ответом клеток, который может запускаться не только по мере их удвоения, но и некоторыми пролиферативными стрессорами (Bringold and Serrano, 2000). Применение микрочиповой технологии для изучения связанных с репликативным старением генов в фибробластах кожи, пигментных клетках сетчатки и эндотелиальных клетках сосудов позволило установить, что характеристики репликативного старения весьма тканеспецифичны (Shelton

et al., 1999). Так, в фибробластах экспрессируются провоспалительные гены, лишь в ограниченной степени совпадающие с характером генной экспрессии при старении *in vitro* в двух других типах клеток.

В последние годы достигнут значительный прогресс в изучении роли теломер в старении. Дисфункция теломер, связана ли она с опосредованным делением клетки укорочением, прямым повреждением или ассоциированным с теломерой дефектным белком, может приводить к трем последствиям: клеточному старению, клеточной гибели (апоптозу) или нестабильности генома (Kim et al., 2002). Нестабильность генома является фактором, предрасполагающим к злокачественной трансформации клетки, тогда как клеточное старение и апоптоз играют роль факторов подавления неопластического процесса.

Клеточное старение рассматривают как один из защитных механизмов клетки при дисфункции теломер, поскольку оно останавливает пролиферацию, тем самым блокируя канцерогенез (Kim et al., 2002; Krtolica and Campisi, 2003). В течение жизни в организме аккумулируются соматические мутации, некоторые из которых могут инактивировать гены, необходимые для клеточного старения (Dolle et al., 2000). Кроме того, потеря гетерозиготности и мутации в генах-супрессорах (*p53* и *Rb*) и онкогенах (например *ras*) может иметь место даже в нормальных клетках (Kim et al., 2002). Другим защитным механизмом клетки с дисфункцией теломер, в который вовлечен интактный *p53*, является апоптоз. В клетках, в которых накапливаются мутации в самом *p53* или в других компонентах его регуляции, развивается нестабильность генома, во много раз повышающая вероятность злокачественной трансформации.

Потеря дистальных областей теломер коррелирует с уменьшением пролиферативной жизни клеток как *in vitro*, так и *in vivo*. Регрессионный анализ данных по укорочению длины теломер в 15 различных тканях человека показал, что скорость укорочения теломер составляет от 20 до 60 пар оснований в год (Takubo et al., 2002). Подчеркивается, что длина теломер не имеет четкой корреляции со временем обновления тканей *in vivo*, а скорее является индивидуальной характеристикой организма.

В настоящее время активно развивается гипотеза о важной роли укорочения теломер и реактивации теломеразы, соответственно, в процессах старения и канцерогенеза (Campisi, 2005). В опухолях человека иммортализация почти всегда обусловлена подавлением гена каталитической субъединицы теломеразы (*hTERT*). Подавление транскрипции *hTERT* в клетках человека *in utero*, посттранскрипционные и эпигенетические изменения в этом гене и, возможно, некоторые другие факторы, предотвращающие образование функционирующей теломеры, ответственны за «иммортализацию» нормальных соматических клеток. Множественность механизмов, подавляющих или регулирующих активность теломеразы, может объяснить исключительную редкость спонтанной иммортализации нормальных клеток человека. С другой стороны, введение *hTERT* иммортализирует

различные типы клеток человека без последующего развития опухолевого роста (Harley, 2002). Следует отметить, что в некоторых весьма злокачественных и метастазирующих опухолях, например, нейробластоме, активность теломеразы не выявляется (Harley, 2002). Более того, показано, что трансфекция теломеразы в эпителиальные клетки, полученные от пациентов с синдромом Li Fraumeni, поддерживает длину теломер, увеличивает продолжительность репликативной жизни клеток и предотвращает их спонтанную иммортализацию.

Предполагается, что основная функция дикого типа супрессорного гена *p53* состоит в запуске остановки роста в ответ на потерю теломер в старых клетках (Wynford-Thomas et al., 1995). Этой гипотезе не противоречат данные о поведении большинства опухолей, в которых этот ген мутирован? и объясняет существование и характеристики редких типов опухолей, в которых функция *p53* сохранена.

Было показано, что старые фибробласты человека стимулируют *in vitro* пролиферацию предраковых и злокачественных, но не нормальных эпителиальных клеток, которые способны образовывать опухоли при прививке голым мышам (Krtolica and Campisi, 2003). У фибробластов, находившихся на более ранних пассажах (пресенильных), эта способность была менее выражена, чем у старых клеток. В какой-то мере этим наблюдениям *in vitro* соответствуют результаты некоторых опытов с эпителиальными опухолями, перевиваемыми подкожно животным разного возраста. Так, не наблюдалось различий в скорости роста перевиваемого плоскоклеточного рака шейки матки SCC мышам в возрасте 3 и 12 мес., однако у 18-месячных самок мышей эта опухоль росла значительно быстрее, чем у 3-месячных (Anisimov, 1987, 2006). Некоторые перевиваемые эпителиальные опухоли (меланома B16, спонтанная карцинома молочной железы, карцинома Уокера-256, гепатома Новикова) у старых реципиентов росли медленней, чем у молодых. Старый возраст оказывал промотирующее влияние на рост *in vivo* большинства перевиваемых сарком (Anisimov, 1987, 2006).

Было также отмечено, что молодые (т.е. прошедшие менее 30% своей репликативной жизни) стромальные клетки эндометрия, полученного от взрослых женщин, угнетают ассоциированную со злокачественностью способность к независимой от подложки пролиферации у клеток рака эндометрия человека, тогда как старые стромальные клетки (прошедшие более 90% их репликативной жизни) теряли такую активность (Rinehart, Torti, 1997).

Следует подчеркнуть, что старение не является обязательным последствием пролиферации в культуре. Так, шванновские клетки крысы способны неограниченно пролиферировать *in vitro*, тогда как фибробласты, выделенные из тех же нервов, подвергаются классическому репликативному старению, свойственному фибробластам грызунов (Mathon et al., 2001). Было установлено, что эндотелиальные клетки пуповинной вены останавливаются в фазе G1 клеточного цикла, но, в отличие от фибробластов, подвер-

жены возрастной тетраплоидизации и апоптотической клеточной гибели, существенно отличаясь этим от фибробластов, резистентных к апоптозу. У грызунов некоторые другие нормальные клетки-предшественники (например, олигодендроциты) обладают неограниченной способностью пролиферировать в культурах, из которых устранены факторы, ответственные за дифференцировку и запуск блокады клеточного цикла (Tang et al., 2001).

В противоположность фибробластам, эпителиальные клетки молочной железы человека спонтанно ускользают от старения, и в них развиваются генетические нарушения, которые необходимы для инициации канцерогенеза (Romanov et al., 2001). В этом исследовании на протяжении 75 пассажей были исследованы пролиферация, кариотип, длина теломер и уровень экспрессии генов *p53*, *p21* и *p14*. Клетки, пережившие процесс отбора, теряли экспрессию *p16*, что коррелирует с их ускользанием от остановки роста. Затем, в течение второй фазы экспоненциального роста, в клетках начали появляться хромосомные нарушения. С этими данными согласуются наблюдения, свидетельствующие о том, что в эпителиальных клет-

ках молочной железы имеет место прогрессивное укорочение теломер. В то же время, уровни белков *p53*, его модулятора (*p14*) и эффектора (*p21*) увеличивались, что свидетельствует о том, что клетки молочного эпителия, агонизирующие *in vitro* (термин предложен с целью отличить данную ситуацию от единственного плато, наблюдающегося при старении фибробластов), эффективно регулируются со стороны *p53*. Эти наблюдения позволяют предположить, что в клетках эпителия молочной железы могут спонтанно возникать нарушения генома, необходимые для возникновения раковых клеток.

В протоковых карциномах молочной железы и их непосредственных предшественниках активность теломеразы увеличена, и до настоящего времени не получены доказательства укорочения теломер в опухолевых клетках по сравнению с нормальными (Rha et al., 1999). Полагают, что клеточное старение может не происходить в некоторых типах эпителиальных клеток. Следует также заметить, что несмотря на то, что аргументы в пользу предположения о связи между репликативным старением клеток человека, биологией теломер и раком человека довольно убедитель-

Таблица 4. Сходство изменений, развивающихся в организме в процессе старения и при канцерогенезе (Анисимов, 2003)

Показатели	Старение	Канцерогенез		
		Химический	Радиационный	Гормональный*
Системный уровень				
Уровень катехоламинов в гипоталамусе	↓	↓	↓	↓
Связывание эстрогенов с рецепторами	↓	↓	↓	↓
Порог чувствительности гипоталамуса к торможению стероидами	↑	↑	↑	↑
Частота персистирующего эструса	↑	↑	↑	↑
Функция коры надпочечников	?	Дисфункция		?
Толерантность к глюкозе	↓	↓	↓	↓
Чувствительность к инсулину	↓	↓	↓	↓
Уровень инсулина в сыворотке крови	↑	↑	↓	↑
Уровень холестерина в крови	↑	↑	↑	=
Количество жира к теле	↑	↑	↑	↑
T-клеточный иммунитет	↓	↓	↓	↓
Тканевой и клеточный уровень				
Клональная пролиферация клеток	↑	↑	↑	↑
Апоптоз	↓	↓	↓	↓
Межклеточные контакты	↓	↓	↓	↓
Уровень ростовых факторов	↑	↑	↑	↑
Окислительный стресс	↑	↑	↑	↑
Биоэнергетика клетки	↓	↓	↓	↓
Молекулярный уровень				
Образование аддуктов ДНК	↑	↑	↑	↑
Эффективность репарации ДНК	↓	↓	↓	↓
«Ошибки» в синтезе ДНК	↑	↑	↑	↑
Гипометилирование ДНК	↑	↑	↑	↑
Длина теломер	↓	↓	↓	↓
Активность теломеразы		↑	↑	↑
Нестабильность генома	↑	↑	↑	↑
Накопление мутаций	↑	↑	↑	↑
Частота хромосомных aberrаций	↑	↑	↑	↑
Активация онкогенов	↑	↑	↑	↑
Мутации в <i>p53</i> и <i>Rb</i>	↑	↑	↑	↑
Канцерогенез				
Частота злокачественных опухолей	↑	↑	↑	↑

* - Индукция синдрома постоянного эструса.

ны, данные о роли репликативного старения в старении человека довольно противоречивы и требуют дальнейших исследований (Wright and Shay, 2000). В ряде работ под сомнение ставится как вопрос о соответствии старения *in vivo* клеточному старению *in vitro*, так и отношение вызываемого онкогенами клеточного старения к процессу канцерогенеза (Stewart and Weinberg, 2002).

Дажной чертой опухолевых клеток является уменьшение межклеточных взаимодействий, осуществляемых через щелевые контакты, (Hanahan and Weinberg, 2000; Luzzatto, 2001). Уменьшение этих взаимодействий также наблюдается в старых эндотелиальных клетках человека (Xie and Hu, 1994). Уровень мРНК коннексина 42 и соответствующего белка также снижается в этих клетках при старении *in vitro*. Неспособность старых клеток угнетать щелевые контакты в ответ на добавление эпидермального фактора роста свидетельствует о дефекте в механизме, регулирующем активность щелевых контактов в старых клетках (Xie, Hu, 1994).

Выше уже упоминалось, что стволовые клетки не имеют пролиферативного лимита *in vivo* (Rubin, 1997, 2001). Реально наблюдаемый феномен при старении *in vivo* — это уменьшение клеточной пролиферации, наблюдаемое в большинстве тканей лабораторных грызунов (Anisimov, 1987; Анисимов, 2003; Rubin, 1997). При этом, основным изменением является увеличение времени клеточного цикла и его вариабельности.

Канцерогенное старение

Поскольку некоторые молекулярные и физиологические механизмы старения и канцерогенеза весьма схожи (таблица 4), резонно задаться вопросом ускоряют ли канцерогены старение и, если ускоряют, то каким образом?

Вопрос о способности канцерогенов ускорять старение обсуждается много лет. Еще в 1938 г Л.Ф. Ларионов (Ларионов, 1938) описал появление признаков ускоренного старения у мышей, подвергавшихся воздействию полициклических ароматических углеводородов. Неонатальное воздействие ДМБА укорачивало продолжительность жизни мышей и сопровождалось преждевременным прекращением эстральной функции, поседением и снижением веса тела (Ohno and Nagai, 1978). В наших опытах у самок крыс, которым вводили 20-метилхолантрен, наблюдались множественные гормонально-метаболические нарушения, включая прекращение эстральной функции, снижение толерантности к глюкозе и чувствительности к инсулину, свойственные в норме старым животным (Anisimov, 1987). Длительная экспозиция к табачному дыму вызывала увеличенную продукцию свободных радикалов и появление признаков ускоренного старения у крыс (Teramoto et al., 1993) и людей (Morita, 2007). Показано, что экспозиция свинцу ускоряет старение артерий у человека (Perlstein et al., 2007). Хорошо известно и довольно хорошо изучено ускорение старения при воздействии ионизирующей радиации, давшее много примеров дозовой зависи-

мости старения и канцерогенеза (Sacher, 1977; Alexandrov, 1982; Москалев, 1991). Воздействие электромагнитных полей сверхнизкой частоты (50-60 Гц) и световое загрязнение, которые оказывают промотирующее рост опухолей воздействие на некоторых моделях, сопровождается ускоренным старением эндокринной и иммунной систем (Stevens, 2005; Anisimov, 2006; Виноградова и др., 2007).

Многочисленные данные о влиянии канцерогенов на нервную, эндокринную и иммунную системы, жирно-углеводный обмен и свободнорадикальные процессы, свидетельствующие об ускорении процессов старения в этих системах под их влиянием, обобщены в ряде работ (Anisimov, 1987, 2005, 2006, 2007; Dilman, 1994). Ионизирующая радиация и химические канцерогены вызывают такие же изменения во внутренней среде организма, как и развивающиеся в процессе естественного старения, но они возникают в более молодом возрасте. Показано, что при воздействии самых разнообразных канцерогенов, обладающих различным механизмом действия и вызывающих опухоли в разных органах, наблюдаются однотипные нарушения жирно-углеводного обмена (Анисимов, 2005, 2006).

В.М. Дильман образно назвал совокупность гормонально-метаболических и иммунных нарушений, развивающихся при старении и при воздействии канцерогенов и способствующих канцерогенезу факторов, «канкрофилией» (Дильман, 1987). Следует подчеркнуть, что эти нарушения возникают задолго до обнаружения опухолей. При этом, канцерогенные агенты (включая ионизирующую радиацию) вызывают как бы быстрый сдвиг всех функций организма в «старую» сторону (Alexandrov, 1982; Anisimov, 1987).

Интенсивность спонтанных повреждений в ДНК весьма высока. В клетках человека спонтанная депуринизация имеет величину порядка 10000 событий в день на клетку, а спонтанное деаминирование происходит со скоростью нескольких сотен событий в день. Естественно, что в результате этого в процесс вовлекаются постоянно функционирующие механизмы репарации ДНК. Таким образом, в наиболее интенсивном естественном мутационном процессе (депуринизация и деаминирование) тимин не участвует (мутации в нем значительно более редкое событие, поэтому системы репарации тимина функционируют менее интенсивно. Из этого следует, что для получения равномерно распределенных точечных мутаций (и одновременной минимизации повреждений в других структурах) у лабораторных животных представляется целесообразным применение аналогов тимина в качестве мутагенов. В ряде работ были представлены доказательства первичности повреждения ДНК в инициации старения, индуцируемого неонатальным введением 5-бромодезоксиуридина (БДУ), и приводились данные, свидетельствующие об ускорении старения у животных, подвергшихся такому воздействию (Napalkov et al., 1989; Anisimov and Osipova, 1992; Anisimov, 1994, 2007).

Следует подчеркнуть, что введение БДУ сопровождается также пропорциональным дозе агента уве-

личением частоты возникновения новообразований как у крыс, так и у мышей. Более того, неонатальное введение БДУ существенно увеличивало чувствительность к канцерогенному эффекту последующего воздействия НММ, ионизирующей радиации, бензоата эстрадиола, синдрома персистирующего эструса и 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата (ТФА) (Napalkov et al., 1989; Anisimov, Osipova, 1992; Anisimov, 1994). Наши данные свидетельствуют о том, что избирательное повреждение ДНК, индуцируемое неонатальным введением БДУ, достаточно для инициации канцерогенеза и ускорения старения. Математическое моделирование процессов старения и канцерогенеза у крыс, подвергшихся воздействию БДУ и НММ, подтвердило выводы, полученные в эксперименте, (Бутов и др., 2001). В целом, результаты этих наблюдений могут служить подтверждением гипотезы о зависимости между уровнем повреждения тканей при мутагенезе и окислительном стрессе и скоростью как старения, так и развития опухолей.

Ускоряет ли преждевременное старение развитие опухолей?

Хорошо известно, что одним из проявлений некоторых синдромов ускоренного старения (прогерии) является увеличение частоты развития злокачественных новообразований (Bohr, 2002). Три синдрома Блюма, Вернера и Ротмунда-Томсона характеризуются аутомно-рецессивной нестабильностью генома, предрасположенностью к развитию рака и преждевременным старением. При этом имеют место мутации в гене, кодирующем семейство геликаз RecQ ферментов, ответственных за поддержание геномной интеграции (Mohaghegh and Hickson, 2001). При синдроме Вернера чаще развиваются саркомы, а не эпителиальные опухоли, составляющие подавляющее большинство новообразований у людей, не страдающих прогериями. При синдроме Блюма, редком заболевании, обусловленном мутацией в гене *BLM* и характеризующимся плейотропным фенотипом, включающим иммунодефицит, нарушенную фертильность, пропорциональную карликовость, подверженность к вызываемой солнцем эритеме, наблюдается раннее развитие многих типов опухолей. При синдроме Ротмунда-Томсона наряду с проявлениями частичной прогерии увеличена частота опухолей, главным образом, остеогенных сарком. Наследуемая нестабильность генома является главной характеристикой, связывающей эти три генетических нарушения на клеточном уровне и проявляющейся различными хромосомными аномалиями (Mohaghegh and Hickson, 2001). У нокаутных мышей *p53/Wtn* наблюдается ускорение канцерогенеза, что свидетельствует о генетическом взаимодействии между генами *p53* и *Wtn* (Lebel et al., 2001). В нормальных клетках человека комплекс *p53-WRN* может распознавать поврежденные (аномальные) структуры ДНК, ведущие к нарушению координации клеточного цикла и репарации ДНК или к индукции апоптоза (Mohaghegh, Hickson, 2001).

При прогерии детей, синдроме Хатчинсона-

Гилфорда, больные умирают в среднем возрасте 12 лет с множественными признаками ускоренного старения (Martin, 1982). Данные о частоте новообразований при этом заболевании отсутствуют. Генетические заболевания, ассоциированные с нарушениями репарации ДНК, такие как синдром Кокейна и атаксия-телангиоэктазия, рассматривают как сегментарные прогерии (Martin, 1982). Данные о частоте рака при синдроме Кокейна отсутствуют, однако при атаксии-телангиоэктазии частота злокачественных новообразований (главным образом, лимфом и лимфоцитарных лейкозов) увеличена в 1200 раз при сравнении с контролем того же возраста (Lehmann, 1985).

Наряду с классической прогерией и синдромами частичной прогерии, еще некоторые заболевания сопровождаются нарушениями, которые могут рассматриваться как интенсифицированное старение. Например, при синдроме Штейна-Левенталя (синдроме склерокистозных яичников), обычно выявляемым в период полового созревания, наблюдается двухстороннее склерокистозное увеличение яичников, связанное с утолщением белочной капсулы яичника, механически препятствующим разрыву созревшего фолликула, т.е., овуляции. В таких яичниках находят фолликулярные кисты и гиперплазию тека-ткани. У пациентов имеют место ановуляция, стерильность, гирсутизм, гиперлипидемия, снижение толерантности к глюкозе, гиперинсулинемия, ожирение, гипертония и увеличенная частота рака молочной железы и эндометрия (Dilman, 1994). У лабораторных крыс и мышей синдром постоянного эструса, который в норме завершает репродуктивный период жизни и эквивалентен климактерическому периоду у женщин, может быть индуцирован многими методами, такими как постоянное освещение, неонатальное введение половых гормонов, субтотальная кастрация, ортотопическая пересадка яичника овариоэктомированному животному, рентгеновское облучение, смазывание яичника йодом или фенолом и др. Вне зависимости от метода индукции, при синдроме постоянного эструса у крыс развиваются признаки преждевременного старения и увеличение частоты новообразований (Anisimov, 1987; Анисимов, 2003).

Индукция постоянного эструса у крыс, которым вводили химические канцерогены (ДМБА или НММ), сопровождалось увеличением частоты опухолей при сравнении с получавшими только канцероген (Anisimov, 1987, 2005). Эти наблюдения свидетельствуют о промотирующем влиянии интенсифицированного старения, возникающего у крыс с синдромом постоянного эструса, на канцерогенез.

Трансгенные животные в изучении механизмов старения и рака

Различия между линиями мышей по продолжительности жизни и патологии, включая рак, свидетельствуют о важной роли генов как детерминант этих параметров. Известны гены, которые определяют вариации в продолжительности жизни генетически родственных линий. Эти гены имеют высокий порог чувствительности и определяют генетическую стабиль-

ность линии животных. В течение последних десяти лет в экспериментальную геронтологию стали внедряться модели млекопитающих, прежде всего мышей, со спонтанными и индуцированными мутациями, гомозиготные нокаутные и трансгенные модели (Andersen, 2001; Anisimov, 2003c). Следует подчеркнуть, что, хотя эффекты некоторых генетических модификаций проявляются лишь в определенные периоды развития особи, они могут проявляться и в течение всей жизни животного. Трансгенные технологии позволили создать модели, позволяющие изучать отдельные звенья процессов, ведущих к потере контроля за клеточным циклом и к развитию опухолей. Они весьма удобны для обнаружения и изучения канцерогенных и химических агентов. Трансгенные и нокаутные мышинные модели, характеризующиеся укороченной или увеличенной продолжительностью жизни, дают уникальную возможность оценить роль генов, вовлеченных в процесс старения, в механизмах развития возрастной патологии, включая рак.

Однако нужно отдавать себе отчет в том, что в организме гены находятся в сети сложных взаимодействий, и при получении нокаутированных животных однозначная информация о функции исследуемого гена получается сравнительно редко. Один и тот же ген, инактивированный у животных разных линий, может приводить к разным фенотипическим эффектам из-за отличий в геномной структуре разных линий. Анализ имеющихся данных по трансгенным и мутантным мышам свидетельствует о том, что только в некоторых моделях наблюдали увеличение продолжительности жизни животных (Анисимов, 2003; Anisimov, 2003c). Оценка параметров популяционного старения показала, что предположения о том, что генетические манипуляции на таких локусах как *GHRHR*, *IGF1R*, *PROPI* и *TRX* замедляют старения, не соответствуют действительности, поскольку периоды удвоения смертности при этом не изменялись (de Magalhaes et al., 2005). Было установлено, что скорость старения замедляется у мышей *C/EBP*, *MSRA*, *HC1*, *GH*, *GHR*, *PIT1* и *PolgA*. Мутантные карликовые мыши, нокаутные мыши *p66^{shc}*, а- трансгенные мыши *MUPA* и *MGMT* живут дольше, чем соответствующие мыши дикого типа (Anisimov, 2003c; Рак у пожилых, 2005). В большинстве случаев частота спонтанных опухолей у этих мышей была одинакова с таковой в контроле, тогда как латентный период развития опухолей был увеличен. Практически на всех моделях с ускоренным старением выявлено увеличение частоты развития опухолей и укорочение латентного периода. Следует отметить, что этот феномен наблюдается как у мышей, которые имеют фенотип, более схожий с естественным старением, так и у мышей, имеющих только частичные признаки процесса старения. Почему это происходит?

Полагают, что определенные типы повреждения ДНК и несоответствующие мутагенные сигналы могут быть причиной приобретения клетками старческого фенотипа (Campisi, 2000). Такой фенотип клетка может приобрести при воздействии множественных потенциально онкогенных стимулов. Эти данные

позволили автору предположить, что клеточное старение это надежный механизм самозащиты клеток от злокачественной трансформации. Несмотря на то, что клеточное старение и другие защитные механизмы препятствуют канцерогенезу, возрастное увеличение частоты рака у млекопитающих практически неотвратимо (в отсутствие специальных воздействий).

Было описано ускорение возрастного накопления хромосомных aberrаций в печени короткоживущих мышей линии А при сравнении с долгоживущими мышами *C57BL/6* (Crowley and Curtis, 1963). У короткоживущих мышей линий *BDF1*, *SAMP6/Tan* и *A/J* наблюдали быстрое возрастное увеличение частоты обнаружения микроядрышек в ретикулоцитах, тогда как у долгоживущих мышей линий *ddY*, *CD-1*, *B6C3F1*, *SAMR1* и *MS/Ae* возрастное увеличение частоты спонтанных микроядрышек было не столь выражено (Sato et al., 1995). Долгоживущие мутантные карликовые мыши Эймса и нокаутные мыши *p66^{shc}* были более резистентными к окислительным повреждениям ДНК, чем мыши дикого типа (Migliaccio et al., 1999), тогда как у мышей линии *SAMP* с ускоренным старением наблюдается увеличение генерации активных форм кислорода (Takeda, 1999), увеличение частоты повреждений ДНК и соматических мутаций при сравнении с линией *SAMR*, устойчивой к старению (Hosokawa et al., 2000). Трансгенные мыши с избыточной экспрессией гена *MGMT* более устойчивы к алкилирующим агентам (Walter et al., 1997), тогда как мыши с дефицитом этого гена или нокаутные по гену *Parp⁻* более чувствительны к воздействию алкилирующих канцерогенов и ионизирующей радиации (Glassner et al., 1999; Masutani et al., 2000). Не было обнаружено значительных отличий в мутационном спектре и частоте мутаций между мышами *p53⁻* и *p53^{+/+}* (Buettner et al., 1997), в то время как частота спонтанных опухолей у нокаутных мышей *p53⁻* была существенно большей, чем у мышей дикого типа (Hursting et al., 1995; Jacks et al., 1997; Atardi et al., 1997). Дефицитные по гену щелевых контактов мыши *Cx32⁻* имеют исключительно высокую чувствительность к спонтанному и химически индуцированному канцерогенезу (Temme et al., 1997). Мыши с дефектом гена пигментной ксеродермы группы А (*XPA*) со сниженной эксцизионной репарацией нуклеотидов имеют более чем в 1000 раз увеличенный риск развития рака кожи, индуцируемого ультрафиолетовым облучением, а также увеличенную чувствительность внутренних органов к мутагенезу и развитию рака после воздействия химическими канцерогенами (Van Steeg et al., 1998; 2000). Однако частота спонтанных опухолей у этих мышей была сравнительно низкой только 15%, и развивались опухоли только в возрасте старше 18 месяцев (Van Steeg et al., 1998). Важно отметить, что скорость возрастного накопления соматических мутаций значительно варьирует в различных тканях мышей (Vijg, 2000). Известно довольно большое число доброкачественных или высокодифференцированных опухолей, отвечающих на регулирующие сигналы, в которых выявляют много потенциально онкогенных мутаций, что позволяет предположить,

что тканевое микроокружение может подавлять экспрессию многих злокачественных фенотипов (Campisi, 2000; DePinho, 2000). Полагают, что репликативное клеточное старение играет определенную роль в старении всего организма. Стареющие клетки с нарушенной функцией накапливаются в тканях с возрастом и повреждают микроокружение (Campisi, 2001). Таким образом, накопление мутаций вместе с накоплением репликативно старых клеток, по мнению этих авторов, приводит к увеличению риска развития рака, что является существенной характеристикой процесса старения млекопитающих. Однако, обсуждая биологию теломер у человека и мыши W.E. Wright и J.W. Shay (2000) предположили, механизмы репликативного старения клеток человека и мыши весьма различны.

В соответствии с многостадийной моделью канцерогенеза число клеток, подвергшихся частичной трансформации, должно увеличиваться с возрастом. Доказательства в пользу такой точки зрения были суммированы нами ранее (Anisimov, 1998). Предполагалось, что большинство генов, определяющих развитие злокачественных опухолей, является генами, которые непосредственно контролируют клеточную пролиферацию и гибель клеток, действуя как своеобразные «сторожа» (“gatekeepers”). В последние годы стало понятно, что изменения в генах, которые поддерживают интеграцию и стабильность генома (гены репарации ДНК) и являются “смотрителями” (“caretakers”), возможно, даже чаще приводят к возникновению рака. Гены-“сторожа” прямо регулируют рост опухолей, обычно подавляя его. Инактивация этих генов определяет тканеспецифическое распределение рака. Наоборот, инактивация генов-«смотрителей» приводит к нестабильности генома, в результате чего увеличивается частота мутации всех генов, включая гены-«сторожа» (Kinzler and Vogelstein, 1997). Однако, несмотря на всю привлекательность этой классификации, она представляется сверхупрощением реальной ситуации. Например, дефект гена репарации ДНК *MSH2* приводит к развитию лишь очень небольшой части рака толстой кишки и не имеет место в других типах рака человека. В то же время нарушения функции генов *p53* и *Rb* наблюдаются в 80-90% всех случаев рака. Важную роль в промоции и прогрессии опухолей играют гены, участвующие в метаболизме и росте тканей, и гены передачи сигналов в иммунной системе, такие как *GH*, *IGF-1*, *APO E*, *TCR* и др. Эти гены действуют как “гомеостатические”. Имеющиеся данные показывают, что все типы генов включены в контроль как опухолевого роста, так и старения (рис. 2).

Мыши с выключенным геном теломеразы предоставляют возможность понять значение существенного укорочения теломер для всего организма. Выживаемость таких мышей (*mTR^{-/-}*) разительно уменьшается с возрастом, и у них высока частота злокачественных новообразований (главным образом, лимфом и тератокарцином) в сравнении с диким типом (Rudolph et al. 1999). Имеются указания, что выраженный иммунодефицит ответственен за плохое состояние здоровья и гибель этих мышей (Blasco, 2002). Эксперименты с мышами с выключенной теломеразой показывают, что связанный с теломерой и регулируемый p53 кризис способствует канцерогенезу, стимулируя нестабильность хромосом (Artandi and DePinho, 2000). Различия в длине теломер и их регуляции могут оказывать существенное влияние на спектр

решающих факторов, влияющих на развитие рака. В частности, укорочение теломер приводит к активации p53, что способствует апоптозу или старению клеток. Кроме того, укорочение теломер может приводить к хромосомным перестройкам, что также способствует развитию рака. Таким образом, теломеры играют важную роль в поддержании геномной стабильности и предотвращении канцерогенеза.

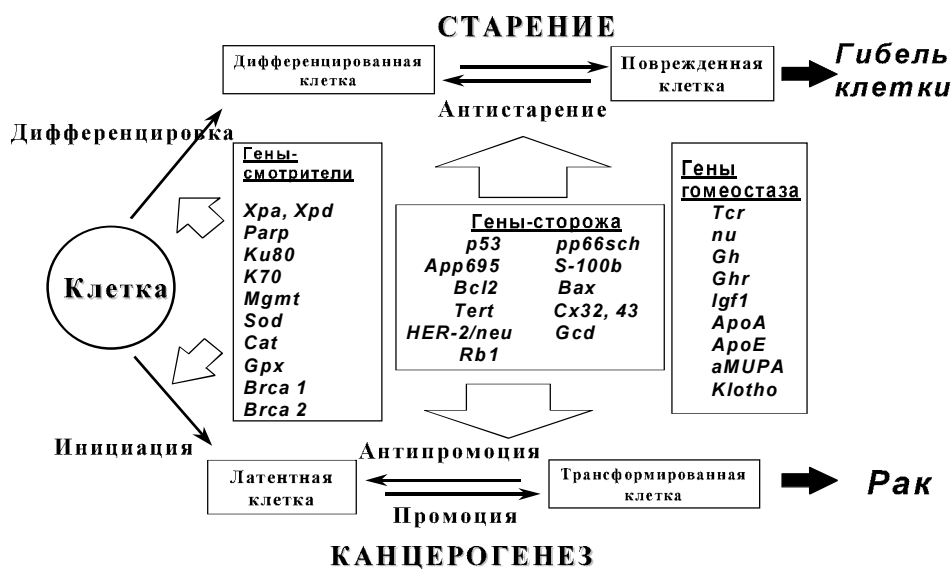


Рис. 2. Гены, участвующие в процессах старения и канцерогенеза (Anisimov, 2003)

и цитогенетическую характеристику возникающих опухолей при старении (Artandi et al., 2000). Трансфекция теломеразы мышам поздних поколений с выключенной теломеразой (*Tert*^{-/-}), у которых укорочены теломеры и имеют место выраженные пролиферативные патологические процессы, восстанавливая у них теломеразную активность, позволяет им избегать хромосомную нестабильность и преждевременное старение (Samper et al. 2001). Для оценки возможного риска экспрессии теломеразы в соматических клетках взрослых животных были сконструированы трансгенные мыши *K5-Tert* (Gonzalez-Suarez et al., 2002). У этих мышей наблюдалась суперэкспрессия теломеразы в многослойных эпителиях, у них быстро заживали раны, и была увеличена частота развития спонтанных и индуцируемых канцерогенами опухолей. При этом наблюдалось снижение частоты некоторых ассоциированных с возрастом дегенеративных заболеваний и увеличение максимальной продолжительности жизни (Gonzalez-Suarez et al., 2005). Таким образом, сверхэкспрессия теломеразы увеличивает продолжительность жизни и риск развития опухолей.

Очевидно, что старение и канцерогенез представляют собой сложные многостадийные процессы, которые могут зависеть от многих причин. В этом смысле новые трансгенные и нокаутные мышинные модели с увеличенной или укороченной продолжительностью жизни являются важным инструментом для оценки роли генов, включенных в старение, в механизме канцерогенеза и других патологических процессов, связанных с возрастом.

Необходимо отметить, что использование трансгенных животных в изучении старения имеет еще очень непродолжительную историю, и публикуемые работы часто весьма уязвимы с точки зрения адекватности экспериментального протокола решению поставленных задач. Довольно часто число животных в экспериментальной и контрольной группах в исследованиях роли суперэкспрессии или подавления отдельных генов на продолжительность жизни слишком мало для корректного суждения о характере взаимосвязи между скоростью старения и развитием патологии у генетически модифицированных животных и животных дикого типа. Как правило, в таких опытах изучаются только единичные биомаркеры старения. Иногда трудно оценить модель как действительное ускорение нормального старения или как синдром прогерии. В отчетах о больших и весьма трудоемких исследованиях зачастую не приводятся сведения о причинах смерти животных и частоте спонтанных опухолей. Недавно была обсуждена программа по адекватной оценке методов вмешательства с целью увеличения продолжительности здоровой жизни (Warner et al., 2000). Вместе с тем, хорошо известны стандартные протоколы долговременных и краткосрочных испытаний для оценки канцерогенного риска химических веществ и других воздействий в экспериментах на грызунах и других животных (Montesano et al., 1986). Представляется целесообразным использование подобных подходов при изучении старения и возрастной патологии у трансгенных мышей. Не

менее важно включение геронтологических исследований в протоколы систематического изучения трансгенных животных. Обычно опыты по канцерогенезу длятся довольно долго. Однако онкологи обычно не уделяют внимания процессам старения у таких животных. Унификация подходов к изучению трансгенных животных будет способствовать существенному расширению наших знаний о природе старения и рака.

Окислительный стресс, старение и канцерогенез

Одной из наиболее разработанных теорий старения в настоящее время является свободно-радикальная теория, которую выдвинул в 1956 г. D. Harman (Harman, 1998). В соответствии с этой теорией, при различных окислительных процессах, происходящих в организме (главным образом в митохондриях), генерируются свободные радикалы, вызывающие многообразные повреждения в макромолекулах (нуклеиновых кислотах, белках и липидах), приводящие к их повреждению и старению. Эта теория объясняет не только механизм самого старения, но и возникновение многочисленных связанных с ним патологических процессов, включая рак (Harman, 1998; Hamilton et al., 2001; Kawanishi et al., 2001; Skulachev, 2001; von Zglinicki et al., 2001, Лю, 2003). В последние годы получено много данных, подтверждающих роль повреждений ДНК, вызванных АФК, образующимися при эндогенных стрессах, в механизмах старения и рака. Эти механизмы включают окислительное повреждение ядерной и митохондриальной ДНК и ее репарацию, укорочение теломер и связанное с ним клеточное старение и были обсуждены в ряде исчерпывающих обзоров (Лю, 2003). Следует заметить, что свободнорадикальные процессы играют существенную роль во многих других процессах, связанных со старением, в частности, в химическом и радиационном канцерогенезе (см. Anisimov, 2004).

Увеличение продолжительности жизни и риск рака

Выше уже отмечалось отсутствие неизменной положительной корреляции между продолжительностью жизни и частотой развития опухолей, выявляемых у инбредных мышей различных линий или животных одной линии, но разных популяций (Anisimov, 1987, 2003).

Отсутствует и корреляция между видовой продолжительностью жизни и частотой рака. Так, расчеты показывают, что у человека с продолжительностью жизни 70 лет, крыс (2,5-3 года) и мышей (2 года) кумулятивная частота новообразований составляет 30% (Anisimov, 1987). Однако при нормализации по количеству клеток в организме оказывается, что мышь более склонна к развитию опухолей, чем человек (Miller, 1991). Этот феномен склонны объяснять тем обстоятельством, что в соматических клетках мыши теломераза более экспрессирована, чем в клетках человека, чему соответствует значительно большая длина теломер у мыши в сравнении с человеком (Wright. Shay, 2000). Вместе с тем, видовой продолжительность жизни млекопитающих хорошо коррелиру-

ет с эффективностью систем репарации ДНК (Cutler, 1991) и резистентностью их клеток к окислительному стрессу, вызываемому различными агентами (Лю, 2003). Эффективность репарации алкилированного канцерогенными нитросоединениями в O⁶-положении гуанина в ДНК у человека в сотни раз выше, чем у мыши, что соответствует большей резистентности человека к этим агентам (Likhachev, 1990). Показано, что имеет место высокая положительная корреляция между эффективностью репарации вызываемых канцерогеном бензо(а)пиреном повреждений в ДНК различных органов и продолжительностью жизни долгоживущих мышей линии C57BL/6 и короткоживущих мышей BALB/c. Анализ данных о частоте рака у генетически модифицированных животных с увеличенной продолжительностью жизни свидетельствует о снижении у них частоты злокачественных новообразований (Анисимов, 2003; Anisimov, 2003b).

Установлено, что ограничение калорийности питания практически всех биологических объектов сопровождается увеличением продолжительности их жизни (Weindruch and Walford, 1988; Roth et al., 1999). Ключевым биологическим параметром при этом является низкий уровень инсулина и IGF-1. У нематод и плодовых мушек были выявлены мутационные изменения генов в системе передачи сигнала от инсулинового рецептора к транскрипционному фактору *daf-16*, которые ассоциированы с существенным увеличением продолжительности жизни. Все описанные мутации (*age-1*, *daf-2*, *CHICO*, *InR* и др.) находятся в генах, предшествующих *daf-16* в инсулиновом каскаде. *daf-16* является транскрипционным фактором и оказывает свое действие, связываясь в промоторных областях генов, регулируемых инсулином (*insulin-response elements*, IRE) (Anisimov, 2003a). Изучение возрастного распределения частот полиморфизмов гена Апо СIII, один из которых (Т-455С) расположен в 5'-нетранслируемой области в пределах IRE, показало, что частота Т-455С положительно коррелирует с возрастом (Anisimov S. et al., 2001). Таким образом, мутации в системе передачи сигнала от инсулина, находящиеся ниже гена человеческого аналога гена *daf-16*, могут иметь отношение к долголетию у людей. С другой стороны, гиперинсулинемия может способствовать окислительному стрессу и тем самым независимо от гипергликемии ускорять старение и формирование ассоциированных с возрастом заболеваний, таких как сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническую болезнь и рак. Гиперинсулинемия развивается вторично в связи с нарушенной способностью инсулина стимулировать метаболизм глюкозы в скелетных мышцах (резистентность к инсулину). Другой способствующий старению эффект инсулина состоит в стимуляции окисления полиненасыщенных жирных кислот и угнетению протеасом (Facchini et al., 2000). Авторы полагают, что данные о существенном увеличении продолжительности жизни *C. elegans* с мутациями, в частности, в гене *daf-2*, тормозящими передачу сигнала от инсулина, или о увеличении продолжительности жизни при ограничении калорийности питания, снижающем уровень глюко-

зы и инсулина в крови и окислительный стресс (Ху, Badr, 1999), могут служить подтверждением их гипотезы. Аналогичным образом, Matsumoto et al. (2000) связывают гипоталамические нарушения и гиперинсулинемию с ускоренным старением и нарушением регуляции репродуктивной функции, энергии и веса тела. Снижение уровня гормона роста, инсулина и IGF-I ведущие факторы увеличения продолжительности жизни у карликовых мышей Эймса (см. Анисимов, 2003). Доказано, что у столетних людей существенно реже наблюдается резистентность к инсулину и лучше сохранена функция β -клеток инсулярного аппарата, чем в более молодых возрастных группах (Paolisso et al., 2001), и снижена частота рака (Pompei et al., 2001; Bordin et al., 1998). В ряде недавних работ резистентность к инсулину и гиперинсулинемия рассматриваются как новые важные факторы в развитии рака (Gupta et al., 2002), причем указывается, что разработка лекарственных средств, восстанавливающих чувствительность к инсулину и, соответственно, снижающих уровень инсулин, может стать наиболее приоритетным направлением в профилактике рака (Gupta et al., 2002).

Замедление старения ограничением калорийности питания у мышей, крыс и обезьян сопровождается торможением спонтанного канцерогенеза (Weindruch, Walford, 1988; Roth et al., 1999). В основе этого эффекта, как полагают, лежит снижение оксидативного стресса, снижение концентрации глюкозы в крови и уменьшение неэнзиматического присоединения глюкозы к долгоживущим белкам, например к гемоглобину (Masoro, 2000; Ulrich and Cerami, 2001). Снижение концентрации глюкозы приводит к снижению как гликозилирования белков, так и перекисного окисления липидов. Определяющим негативный эффект гликозилирования является не собственно присоединение глюкозы к долгоживущим белкам, а происходящее вследствие этого обусловленное свободными радикалами их окислительное повреждение. Нуклеотиды и ДНК также подвергаются неэнзиматическому гликозилированию, что приводит к мутациям из-за прямого повреждения ДНК и инактивации систем репарации ошибок рекомбинации, это также вызывает повышенную ломкость хромосом. В настоящее время изучаются подходы к предупреждению влияния гликозилирования на долгоживущие белки с помощью фармакологических и генетических воздействий. Использование миметиков калорийно ограниченной диеты, повышающих чувствительность к инсулину и снижающих уровень глюкозы в организме рассматривается как перспективное направление в современной геронтологии (Ingram et al., 2006; Blagosklonny, 2007). Длительное введение мышам и крысам антидиабетических бигуанидов приводило к замедлению старения репродуктивной системы, увеличению продолжительности жизни животных и снижению у них частоты развития новообразований (Anisimov, 1987, 2003a). Применение различных герпротекторов, т.е. средств, увеличивающих продолжительность жизни, по-разному влияло на развитие но-

вообразований, что определялось, в основном, типом замедления старения в популяции, подвергшейся такому воздействию (Анисимов, 2003; Anisimov, 2006).

Наши наблюдения свидетельствуют о том, что более “прямоугольный” характер кривых выживания ассоциирован с увеличенной скоростью развития фатальных опухолей у крыс (рис. 3). С другой стороны, увеличение в популяции животных доли слабых, уязвимых (frailty) особей в молодом возрасте, приводит к уменьшению показателей смертности в старости и, соответственно, уменьшению скорости развития фатальных опухолей (Anisimov, 1987, 2004, 2005). Принимая в расчет экспоненциальный характер отношения между частотой возникновения опухолей и возрастом, мы рассчитали коэффициент корреляции между параметрами популяционного старения и развитием опухолей в десяти группах интактных крыс, находившихся в одинаковых условиях и которых мы использовали в качестве контрольных животных в наших экспериментах (Anisimov, 1987). Была установлена высокая положительная корреляция в между скоростью старения популяции (оцененную как a в уравнении Гомпертца ($R = R_0 \cdot e^{at}$, где R_0 смертность к моменту времени (t) = 0; b = константа), и кумулятивной частотой развития опухолей Q ($r = 0,70$, $p < 0,05$) и константой k ($r = 0,77$, $p < 0,05$) в уравнении, отражающем зависимость частоты развития новообразований от возраста ($Q = Q_0 \cdot e^{kt}$, где Q = общее число опухолей, t = время, $Q = Q_0$ к моменту времени $t = 0$, k = констан-

та). Очевидно, что константа k может рассматриваться как показатель скорости увеличения с возрастом частоты опухолей в популяции. Таким образом, наши данные свидетельствуют о положительной корреляции между появлением опухолей, скоростью возрастного увеличения частоты опухолей и скоростью старения самой популяции (Anisimov, 1987, 1998). К аналогичному выводу привел анализ результатов воздействия различных геропротекторов на кривые смертности мышей и крыс и кривые возникновения в этих же популяциях частоты новообразований (Anisimov, 1987, 2004, 2005).

Следует отметить, что с начала индустриальной революции в конце XVIII века и вплоть до середины XX века в экономически развитых странах наблюдалась прогрессивная «ректангуляция» кривой Гомпертца, которой соответствовало постепенное увеличение заболеваемости раком (Totter, 1980; Parkin et al., 2001). Частота всех злокачественных новообразований в США и многих других странах, включая Россию, существенно увеличивалась с 1960 по 1990 г как у мужчин, так и у женщин, что коррелировало с увеличением продолжительности жизни. Начиная с 90-х годов прошлого века, в наиболее экономически развитых странах, таких как США, Швеция и Дания, отмечается замедление нарастания частоты рака и даже его снижение (Ries et al, 2001). Следует отметить, что именно во второй половине XX века в наиболее развитых странах изменился характер траекторий смертности рек-

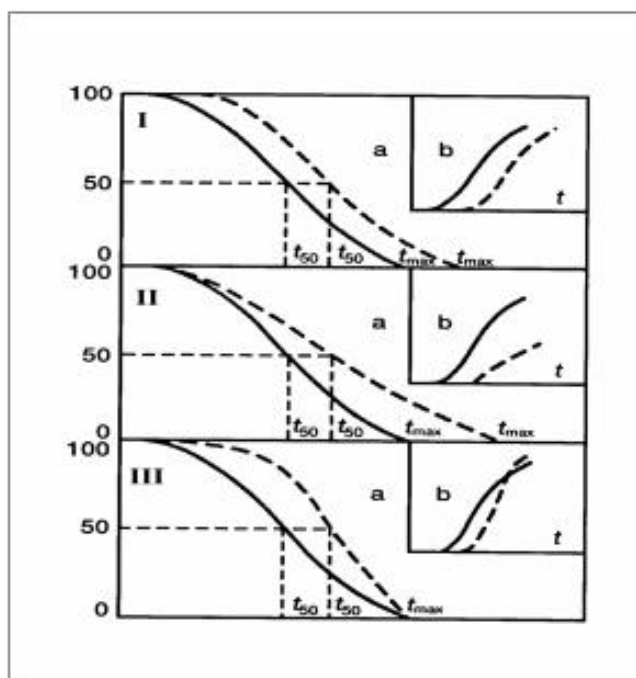


Рис. 3. Типы замедления старения (а) и влияние геропротекторов на развитие спонтанных новообразований (б) (Anisimov, 1987)

По оси абсцисс возраст; по оси ординат (а) - количество животных, %; (б) количество животных с опухолями. Сплошная линия- контроль; штриховая линия введение геропро-тектора.

Таблица 5. Канцерогенез у человека и животных: сходства и различия

Параметр	Человек	Лабораторные животные (грызуны)
Частота рака различных локализаций	Три типичных паттерна: <ul style="list-style-type: none"> Ускоренное увеличение Линейное увеличение и/или уменьшение с возрастом Волнообразный характер 	Три типичных паттерна: <ul style="list-style-type: none"> Ускоренное увеличение Линейное увеличение и/или уменьшение с возрастом Волнообразный характер
Смертность от рака vs частоты рака	Смертность от рака увеличивается с возрастом медленнее, чем частота	Смертность от рака увеличивается с возрастом медленнее, чем частота
Смертность от рака в старших возрастах	Смертность от рака уменьшается в самых старших возрастах	Смертность от рака уменьшается в самых старших возрастах у некоторых линий мышей и крыс
Изменение во времени частоты рака	Увеличение общей частоты рака во 2-й половине 20 века, снижение ее в 90-х годах в ряде стран	Увеличение общей частоты спонтанных опухолей у животных некоторых линий
Половые различия возрастных паттернов частоты рака	Кривые возрастной динамики частоты рака у мужчин и женщин пересекаются в период климактерии у женщин	Кривые возрастной динамики частоты опухолей у самцов и самок крыс пересекаются в период выключения эстральной функции у самок
Уменьшение скорости роста опухолей с возрастом	Обычно наблюдается у людей, некоторые опухоли растут с одинаковой скоростью у молодых и старых пациентов	Скорость роста определяется гистогенезом опухоли. Некоторые опухоли растут быстрее у молодых животных, другие – у старых
Ранняя диагностика рака	Улучшение диагностики не может полностью объяснить увеличение частоты рака	Диагностика стандартна
Спонтанная регрессия опухолей	Наблюдается крайне редко	Часто наблюдается в ряде моделей (например, при каждом канцерогенезе у мышей)
Улучшение диагностики опухолей	Новые технологии увеличивают возможности раннего выявления и частоту рака	При серийных гистологических срезах выявляется больше опухолей
Улучшение диагностики и конкурирующие причины смерти	Раннее выявление может увеличить число новых случаев рака	Классификация опухолей на «фатальные» и «случайные» повышает надежность результатов
Частота рака в разных странах	Существенные различия в частоте рака в разных странах	Частота спонтанных опухолей может существенно варьировать у животных одной линии в одной лаборатории или в разных лабораториях
Частота рака отдельных локализаций в разных странах	Частота рака отдельных локализаций в разных странах широко варьирует	Частота спонтанных опухолей отдельных локализаций может существенно варьировать у животных одной линии в одной лаборатории или в разных лабораториях
Инфекция и рак	Вирус гепатита В и <i>Helicobacter pylori</i> вызывают рак у человека	Вирус гепатита В, <i>Helicobacter pylori</i> и . вызывают рак у грызунов
Экзогенные канцерогены	Более 60 канцерогенов, включая ионизирующую радиацию и УФО, гормоны и производственные процессы являются канцерогенными для человека	Большое число химических веществ, радиация и многие гормоны канцерогенны у грызунов. Канцерогенные для человека агенты вызывают опухоли и у грызунов
Параметры индивидуального развития и старения	Возраст менархе и климакса влияет на частоту рака у женщин	Линейные различия во времени созревания влияют на чувствительность к канцерогенам
Потребление пищи	Переедание и ожирение увеличивают частоту рака	Переедание и ожирение увеличивают частоту рака, ограничение калорийности питания снижает ее
Особенности диеты	Овощи и фрукты снижают частоту рака	Многие витамины (А, С, U и др.) тормозят канцерогенез
Гормональная заместительная терапия	Увеличивает риск рака груди и эндометрия у постменопаузальных женщин	Эстрогены канцерогенны у грызунов
Антибиотики	Некоторые антибиотики увеличивают частоту рака	Они же канцерогенны для грызунов
Лекарства и пищевые добавки	Некоторые увеличивают риск рака	Некоторые являются канцерогенными для грызунов
Физическая активность	Экстремальный спорт увеличивает риск рака, умеренные нагрузки снижают его	Физический стресс промотирует канцерогенез
Электромагнитные поля низкой частоты	Отдельные доказательства увеличения частоты рака	В ряде работ выявлено увеличение риска рака
Свет ночью (постоянное освещение)	Увеличение риска рака у работающих в ночную смену	Постоянное освещение стимулирует канцерогенез
Онкогены	Множество онкогенов вовлечено в развитие рака	Множество тех же онкогенов или их гомологов вовлечено в канцерогенез
Опухолевые супрессоры	p53 и Rb являются анти-онкогенами у человека	p53 и Rb являются анти-онкогенами у грызунов
Рак и старение	Три основных паттерна возрастного увеличения частоты рака	Существуют доказательства связи рака и старения

тангуляция сменилась их параллельным сдвигом, что сопровождалось уменьшением смертности в самых старших возрастах (Vaupel et al., 1998; Yashin et al., 2002). В то же время, в менее экономически развитых странах, например, в России, частота злокачественных новообразований продолжает увеличиваться. Очевидно, что увеличение продолжительности жизни и характера траектории смертности по типу параллельного сдвига или даже увеличения ее наклона, будет способствовать снижению частоты злокачественных новообразований.

Заключение

Основные проявления канцерогенеза у человека и лабораторных грызунов имеют как много общего, так и некоторые различия (Anisimov et al., 2005) (Таблица 5). Частота злокачественных новообразований увеличивается с возрастом у человека и животных, однако характер возрастного распределения опухолей различен в различных органах и тканях и зависит от типа новообразования. С возрастом чувствительность различных тканей к инициации опухолевого процесса может как уменьшаться, так и увеличиваться, однако старый возраст обычно способствует промоции и прогрессии канцерогенеза. Было установлено, что ряд общих генетических процессов (например, активация теломеразы) играет ключевую роль как в канцерогенезе, так и в процессе иммортализации (DePinho, 2000; Reddel, 2000; Kim et al., 2002; Stewart, Weinberg, 2002; Serrano, Blasco, 2007).

Основные гипотезы, которые однако не исчерпывают проблему, претендуют на то, что именно они объясняют связь рака и возраста:

- Канцерогенез это протяженный во времени процесс, поэтому его результат, а именно рак, наиболее вероятно будет выявлен у индивидуума пожилого возраста, или, другими словами, необходимо время для накопления соответствующей дозы экзогенного канцерогена;

- При старении в тканях развиваются молекулярные нарушения, аналогичные наблюдаемым на первых стадиях канцерогенеза, что увеличивает чувствительность этих тканей к действию канцерогенов;

- Возрастные изменения внутренней среды организма, включая изменения пролиферативной активности и иммуностарение, способствуют возникновению и росту злокачественной опухоли.

Предполагается, что фактором, связующим старение и рак, является нестабильность теломер. Увеличение чувствительности к действию опухолевых промоторов наблюдается в пожилом возрасте как у животных, так и у человека, что предсказывается многостадийной моделью канцерогенеза. Старых животных следует включать в протоколы испытаний на канцерогенность, в особенности веществ с предполагаемой промоторной активностью. Стратегия профилактики рака должна включать не только предупреждение воздействия канцерогенных факторов окружающей среды, но также нормализацию возрастных нарушений внутренней среды организма. Воздействия, увеличивающие продолжительность жизни (генети-

ческие модификации, геропротекторы) могут либо задерживать начало старения и увеличивать при этом латентный период развития опухолей, либо снижать смертность среди долгоживущих индивидуумов, приводя к снижению риска развития рака. Наконец, некоторые такие модификации или препараты могут увеличивать выживаемость индивидуумов с относительно короткой продолжительностью жизни, что может приводить к увеличению частоты развития новообразований в популяции в целом.

Работа выполнена при поддержке грантом Президента Российской Федерации НШ-5052.2006.4.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Анисимов В.Н.* Возрастные изменения чувствительности к канцерогенам и профилактика рака // Вестн. АМН СССР. 1989. № 8. С.84-92.
2. *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб: Наука, 2003. 464 с.
3. *Бутов А.А., Волков М.А., Анисимов В.Н.* Математическая имитационная модель ускоренного старения, индуцированного 5-бромо-2-дезоксисуридином // Успехи геронтол. 2001. Т.8. С.70-76.
4. *Виноградова И.А., Букалев А.В., Забежинский М.А. и др.* Влияние светового режима на развитие спонтанных опухолей у самок крыс // Вопр.онкол. 2007. Т. 53, №5. С.554-561.
5. *Дильман В.М.* Четыре модели медицины. М.: Медицина, 1987. 288 с.
6. *Имянитов Е.Н., Хансон К.П.* Молекулярная онкология: клинические аспекты.- СПб.: Изд.дом СПбМАПО, 2007.- 211 с.
7. *Ларионов Л.В.* Рак и эндокринная система. Л.: Медицина, 1938.
8. *Лю Б.Н.* Старение, возрастная патология и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция).- Алматы: КазНТУ, 2003.- 808 с.
9. *Москалев Ю.И.* Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. М.: Медицина, 1991. 464 с.
10. *Напалков Н.П.* Рак и демографический переход // Вопр. онкол. 2005. Т.50. №2. С.127-144.
11. Рак у пожилых / Под ред. Анисимова В.Н., Моисеенко В.М., Хансона К.П. СПб.: Издательство Н-Л, 2004. 336 с.
12. *Alexander J.* Use of transgenic mice in identifying chemopreventive agents // Toxicol. Lett.-2000.-Vol.112/113.-P.507-512.
13. *Alexandrov S.N.* Late Radiation Pathology of Mammals. Fortschritte der Onkologie. Band 6, Berlin: AkademikVerlag, 1982.
14. *Ames B.N., Shigenaga M.K., Hogen T.M.* Oxidants,

- antioxidants, and the degenerative diseases of aging // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. Vol.90. P.7915-7921.
15. *Anisimov S.V., Volkova M.V., Lenskaya L.V. et al.* Age-associated accumulation of the Apolipoprotein C-III gene T-455C polymorphism C allele in a Russian population // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 2001. Vol.56A. P. B27-B32.
 16. *Anisimov V.N.* Carcinogenesis and aging // Adv. Cancer Res. 1983. Vol. 40. P.365-424.
 17. *Anisimov V.N.* Carcinogenesis and Aging. Vols. 1 & 2.- Boca Raton: CRC Press, 1987.- 165 p; 148 p.
 18. *Anisimov V.N.* Effect of age on doseresponse relationship in carcinogenesis induced by single administration of Nnitrosomethylurea in female rats // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1988. Vol. 114. P. 628635.
 19. *Anisimov V.N.* Age and dose-dependent carcinogenic effects of N-nitroso-methylurea administered intraperitoneally in a single dose to young and adult female mice // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1993. Vol.119. P.657-664.
 20. *Anisimov V.N.* The sole DNA damage induced by bromodeoxyuridine is sufficient for initiation of both aging and cancer in vivo // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1994. Vol.719. P.494-501.
 21. *Anisimov V.N.* Effect of aging and interval between primary and secondary treatment in carcinogenesis induced by neonatal exposure to 5bromodeoxyuridine and subsequent administration of Nnitrosomethylurea in rats // Mutat. Res. 1995. Vol.316. P.173187.
 22. *Anisimov V.N.* Ageing and the mechanisms of carcinogenesis: some practical implications // J. Exp.Clin. Cancer Res. 1998. Vol. 17. P.264-268.
 23. *Anisimov V.N.* Aging and cancer in transgenic and mutant mice // Front. Biosci. 2003. Vol.8. P. S883-902.
 24. *Anisimov V.N.* Insulin / IGF-1 signaling pathway driving aging and cancer as a target for pharmacological intervention // Exp. Gerontol. 2003a. Vol.38, №10. P.1041-1049.
 25. *Anisimov V.N.* The relationship between aging and carcinogenesis: a critical appraisal // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2003b. Vol.45. P. 277-304.
 26. *Anisimov V.N.* Age as a risk factor in multistage carcinogenesis // In: Comprehensive Geriatric Oncology, 2nd ed./Balducci L., Lyman G.H., W.B.Ershler, M. Extermann, eds. - London & New York: Taylor & Francis Group, 2004, pp. 75-101.
 27. *Anisimov V.N.* Biological interactions of aging and carcinogenesis // Cancer Treat. Res. 2005. Vol.124. P.17-50.
 28. *Anisimov V.N.* Effect of host age on tumor growth rate in rodents // Front. Biosci. 2006. Vol. 11. P.412-422.
 29. *Anisimov V.N.* Light pollution, reproductive function and cancer risk // Neuro Endocrinol. Lett. 2006. Vol. 27. N 1-2. P. 35-52.
 30. *Anisimov V.N.* Premature ageing prevention: Limitations and perspectives of pharmacological interventions // Current Drugs Targets, 2006. Vol.7, No.11, P. 1485-1503.
 31. *Anisimov V.N.* Biology of aging and cancer // Cancer Control, 2007, Vol.14, № 1, 23-31.
 32. *Anisimov V.N., Gvardina O.E.* N-nitrosomethylurea-induced carcinogenesis in the progeny of male rats of different ages // Mutat. Res. 1995. Vol. 316. P.139-145.
 33. *Anisimov V.N., Osipova G.Y.* Effect of neonatal exposure to 5bromo2'deoxyuridine on life span, estrus function and tumor development in rats an argument in favor of the mutation theory of aging? // Mutat. Res. 1992. Vol. 275. P.97110.
 34. *Anisimov V.N., Ukraintseva S.V., Yashin A.I.* Cancer in rodents: does it tell us about cancer in humans? // Nature Rev. Cancer. 2005. Vol. 5. P.807-819.
 35. *Atardi L.D., Jacks T.* The role of p53 in tumour suppression: lessons from mouse models // Cell. Mol. Life Sci. 1999. Vol.55. P.48-63.
 36. *Bartke A.* New findings in transgenic, gene knockout and mutant mice // Exp Gerontol. 2006. Vol. 41. P.1217-1219.
 37. *Battalora M.St.J., Spadling J.W., Szczesniak C.J. et al.* Age-dependent skin tumorigenesis and transgene expression in the Tg.AC (v-Ha-ras) transgenic mice // Carcinogenesis. 2001. Vol. 22. P.651-659.
 38. *Blagosklonny M.V.* An anti-aging drug today: from senescence-promoting genes to anti-aging pill // Drug Discovery Today. 2007. Vol.12. P. 218-224.
 39. *Blasco M.A.* Telomerase beyond telomeres // Nature Rev. Cancer. 2002. Vol.2. P.1-7
 40. *Bohr V.A.* Human premature aging syndromes and genomic instability // Mech. Ageing Dev. 2002. Vol.123. P. 987-993
 41. *Bordin P., Da Gol P.G., Peruzzo P. et al.* Causes of death and clinical diagnostic error in extreme aged hospitalized people: a retrospective clinical-necropsy survey // J. Gerontol. Med. Sci. 1999. 54A. P.M554-M559.
 42. *Bringold F., Serrano M.* Tumor suppressors and oncogenes in cellular senescence // Exp. Gerontol. 2000. Vol.35. P.317-329.
 43. *Buettner V.L., Nishino H., Haavik J. et al.* Spontaneous mutation frequencies and spectra in p53 (+/+) and p53 (-/-) mice: a test of the guardian of the genome hypothesis in th Big Blue transgenic mouse mutation detection system / / Mutat. Res. 1997. Vol. 379. P.13-20.
 44. *Campisi J.* Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes // Exp. Gerontol. 2003. Vol.38. P.5-11.
 45. *Campisi J.* Aging, tumor suppression and cancer: high wire-act! // Mech. Ageing Dev. 2005. Vol. 126. P.51-58.
 46. *Chow M., Rubin H.* Clonal selection versus genetic instability

- as the driving force in neoplastic transformation // *Cancer Res.* 2000. Vol. 60. P. 6510-6518.
47. *Cutler R.* Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1991. Vol. 621. P. 1-28.
 48. *DePinho R.A.* The age of cancer // *Nature.* 2000. Vol. 408. P. 248-254.
 49. *Dilman V.M.* Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention Strategy.- Chur: Harwood Academic Publ., 1994. 387 p.
 50. *Dix D.* On the role of gene relative to the environment in carcinogenesis // *Mech. Ageing Dev.* 2003. Vol. 124. P. 323-332.
 51. *Dix D., Cohen P.* On the role of aging in carcinogenesis // *Anticancer Res.* 1999. Vol. 19. P. 723-726.
 52. *Dix D., Cohen P., Flannery J.* On the role of aging in cancer incidence // *J. Theor. Biol.* 1980. Vol. 83. P. 163-173.
 53. *Dockerty J.D., Draper G., Vincent T. et al.* Case-control study of parental age, parity and socioeconomic level in relation to childhood cancers // *Int. J. Epidemiol.* 2001. Vol. 30. P. 1438-1439.
 54. *Dolle M.E., Snyder W.K., Dunson D.B., Vijg J.* Mutational fingerprints of aging // *Nucleic Acids Res.* 2002. Vol. 30. P. 545-549.
 55. *Dolle M.E.T., Snyder W.K., Gossen J.A. et al.* Distinct spectra of somatic mutations accumulated with age in mouse heart and small intestine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 8403-8408.
 56. *Du M.Q., Carmichael P.L., Phillips D.H.* Induction of activated mutations in the human cHras protooncogene by oxygen free radicals // *Mol. Carcinogenesis.* 1994. Vol. 11. P. 1701-175.
 57. *Ebbesen P.* Papilloma development on young and senescent mouse skin treated with 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate // In: *Age-Related Factors in Carcinogenesis / Likhachev A.J., Anisimov V.N., Montesano R. (Eds).* (IARC Sci. Publ. No. 58). IARC: Lyon. 1985. P. 167-170.
 58. *Ebbesen P.* Reticulosarcoma and amyloid development in BALB/c mice inoculated with syngeneic cells from young and old donors // *J. Natl. Cancer. Inst.* 1971. Vol. 47. P. 1241-1245.
 59. *Ershler W.B.* Explanations for reduced tumor proliferative capacity with age // *Exp. Gerontol.* 1992. Vol. 27. P. 551-558.
 60. *Evan G., Littlewood T.* A matter of life and cell death // *Science.* 1998. Vol. 281. P. 1317-1322.
 61. *Facchini F.S., Hua N.W., Reaven G.M., Stoohs R.A.* Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? // *Free Radical Biol. Med.* 2000. Vol. 29. P. 1302-1306.
 62. *Geschickter C.F., Byrnes E.W.* Factor influencing the development and time of appearance of mammary cancer in the rat in response to estrogen // *Arch. Pathol.* 1942. Vol. 33. P. 334-342.
 63. *Gonzalez-Suarez E., Geserick C., Flores J.M., Blasco M.A.* Antagonistic effects of telomerases on cancer and aging in K5-mTert transgenic mice // *Oncogene.* 2005. Vol. 24. P. 2256-2270.
 64. *Gupta K., Krishnaswamy G., Karnad A., Peiris A.N.* Insulin: a novel factor in carcinogenesis // *Am. J. Med. Sci.* 2002. Vol. 323. P. 140-145.
 65. *Hamilton M.L., Van Remmen H., Drake J.A. et al.* Does oxidative damage to DNA increase with age? // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. Vol. 98. P. 10469-10474.
 66. *Hanahan D., Weinberg R.A.* The hallmarks of cancer // *Cell.* 2000. Vol. 100. P. 57-70.
 67. *Harley C.B.* Telomerase is not an oncogene // *Oncogene.* 2002. Vol. 21. P. 494-502.
 68. *Harman D.* Extending functional life span // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 95-112.
 69. *Hayflick L.* How and why we age // *Exp. Gerontol.* 1998. Vol. 33. P. 639-653.
 70. *Hemminki K., Kyyronen P.* Parental age and risk of sporadic and familial cancer in offspring: implications for germcell mutagenesis // *Epidemiology.* 1999. Vol. 10. P. 747-751.
 71. *Hennings H., Boutwell R.K.* Studies on the mechanism of skin tumor promotion // *Cancer Res.* 1970. Vol. 30. P. 312-320.
 72. *Ingram D.K., Zhu M., Mamczarz J. et al.* Calorie restriction mimetics: an emerging research field // *Aging Cell.* 2006. Vol. 5. P. 97-108.
 73. *Kawanishi S., Hiraki Y., Oikawa S.* Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging // *Mutat. Res.* 2001. Vol. 488. P. 65-76.
 74. *Kim S., Kaminker P., Campisi J.* Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending // *Oncogene.* 2002. Vol. 21. P. 503-511.
 75. *Kinzler K.W., Vogelstein B.* Gatekeepers and caretakers // *Nature.* 1997. Vol. 386. P. 761-763.
 76. *KrauppGrasl B., Huber W., Taper H., SchulteHermann R.* Increased susceptibility of aged rats to hepatocarcinogenesis by the peroxisome proliferator nafenopin and the possible involvement of altered liver foci occurring spontaneously // *Cancer Res.* 1991. Vol. 51. P. 6666-671.
 77. *Kroes R., Garbis-Berkvens J.M., de Vries T., van Nesselrooy H.J.* Histopathological profile of a Wistar rat stock including a survey of the literature // *J. Gerontol.* 1981. Vol. 36. P. 259-279.
 78. *Krtolica A., Campisi J.* Integrating epithelial cancer, aging stroma and cellular senescence // *Успехи геронтол.* 2003. Т.

- 11.C. 109-116.
79. *Kunisada T., Danner D., Friedman V., Schneider E.L.* Increased susceptibility to SV40 transformation with development and in vitro aging // *Exp. Cell Res.* 1990. Vol. 189. P. 222-226.
80. *Lee GH., Sawada N., Mochizuki Y. et al.* Immortal epithelial cells of normal C3H mouse liver in culture: possible precursor populations for spontaneous hepatocellular carcinoma // *Cancer Res.* 1989. Vol. 49. P. 403409.
81. *Lehmann A.R.* Ageing. DNA repair of radiation damage and carcinogenesis: Fact and fiction. In: Likhachev A, Anisimov V, Montesano R (eds.): *Age Related Factors in Carcinogenesis*. IARC Sci Publ No 58. Lyon: IARC, 1985. P. 203214.
82. *Likhachev A.J.* Effects of age on DNA repair in relation to carcinogenesis // *Cancer and Aging / A. Macieira-Coelho, B. Nordenskjold, eds.* Boca Raton: CRC Press. 1990. P. 97-108.
83. *Liotta L.A., Kohn E.C.* The microenvironment of the tumor-host interface // *Nature*. 2001. Vol. 411. P. 375-379.
84. *Luzatto L.* The mechanisms of neoplastic transformation // *Eur. J. Cancer*. 2001. Vol. 37. P. S114-S117.
85. *Macieira-Coelho A.* Genome reorganization through cell division, implications for aging of the organism and cancer development // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994. Vol. 719. P. 108-128.
86. *Macieira-Coelho A.* Neoplastic disease through the human life span // *Biogerontology*. 2001. Vol. 2. P. 179-192.
87. *de Magalhaes J.P., Cabral J.A.S., Magalhaes D.* The influence of genes on the aging process of mice: a statistical assessment of the genetic of aging // *Genetics*. 2005. Vol. 265. P. 265-274.
88. *Martin G.M.* Syndromes of accelerated aging // *Natl. Cancer Inst. Monograph*. 1982. Vol. 60. P. 241-247.
89. *Masoro E.J.* Caloric restriction and ageing: an update // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 299-305.
90. *Mathon N.F., Malcolm D.S., Harrisingh M.C. et al.* Lack of replicative senescence in normal rodent glia // *Science*. 2001. Vol. 291. P. 872-875.
91. *Matoha M.F., Cosgrove J.W., Atak J.R., Rapoport S.I.* Selective elevation of c-myc transcript levels in the liver of the aging Fischer-344 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987. Vol. 147. P. 1-7.
92. *Matsumoto A.M., Marck B.T., Gruenewald D.A., Wolden-Hanson T., Naai M.A.* Aging and the neuroendocrine regulation and body weight // *Exp. Gerontol.* 2000. Vol. 35. P. 1251-1265.
93. *Mattson M.P., Duan W., Maswood N.* How does the brain control lifespan? // *Ageing Res. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 155-165.
94. *Mayersohn M.* Pharmacokinetics in the elderly // *Environ Health Perspectives Suppl* 11. 1994. Vol. 102. P. 119124.
95. *McCullough K.D., Coleman W.B., Smith G.J., Grisham J.W.* Age dependent regulation of the tumorigenic potential of neoplastically transformed rat liver epithelial cells by the liver microenvironment // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. P. 36683671.
96. *Migliaccio E., Giorgio M., Mele S. et al.* The p66shs adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. // *Nature*. 1999. Vol. 402. P. 309-313.
97. *Miller R.A.* Gerontology as oncology // *Cancer*. 1991. Vol. 68. P. 2496-2501.
98. *Miller R.A.* Aging and cancer another perspective // *J. Gerontol.* 1993. Vol. 48. P. B8B9.
99. *Miyaishi O., Ando F., Matsuzawa K. et al.* Cancer incidence in old age // *Mech. Ageing Dev.* 2000. Vol. 117. P. 47-55.
100. *Mohaghegh P., Hickson I.D.* DNA helicase deficiencies associated with cancer predisposition and premature ageing disorders // *Hum. Mol. Genet.* 2001. Vol. 10. P. 741-746.
101. *Morita A.* Tobacco smoke causes premature skin aging // *J. Dermatol. Sci.* 2007. Vol. 48. P. 169-175.
102. *Moriwaki S., Ray S., Tarone R.E. et al.* The effect of donor age on the processing of UV-damaged DNA by cultured human cells: reduced DNA repair capacity and increased DNA mutability // *Mutat. Res.* 1996. Vol. 364. P. 117-123.
103. *Napalkov N.P., Anisimov V.N., Likhachev A.J., Tomatis L.* 5bromodeoxyuridine induced carcinogenesis and its modification by persistent estrus syndrome, unilateral nephrectomy, and X-irradiation in rats // *Cancer Res.* 1989. Vol. 49. P. 318323.
104. *Ohno S, Nagai Y.* Genes in multiple copies as the primary cause of aging. In: Bergsma D., Harrison D.E., Paul N.W., eds. *Genetic Effects of Aging*. New York: Alan R Liss, 1978. P. 501514.
105. *Ono T., Uehara Y., Kurishita A. et al.* Biological significance of DNA methylation in the aging process // *Age & Aging*. 1993. Vol. 22. P. 534543.
106. *Paolisso G., Barbieri M., Rizzo M.R., Carella C., Rotondi M., Bonafe M., Francesci C., Rose G., De Benedictis G.* Low insulin resistance and preserved β -cell function contribute to human longevity but are not associated with TH-INS genes // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 37. P. 149-156.
107. *Parkin D.M., Bray F.I., Devesa S.S.* Cancer burden in the year 2000. The global picture // *Eur. J. Cancer*. 2001. Vol. 37. P. S4-S66.
108. *Perlstein T., Weuve J., Schwartz J., Sparrow D., Wright R., Litonjua A., Nie H., Hu H.* 2007. Cumulative community-level lead exposure and pulse pressure: the normative aging study. *Environ. Health Perspect.* 115, 1696-1700.
109. *Peto J.* Cancer epidemiology in the last century and the next decade // *Nature*. 2001. Vol. 411. P. 390-395.

110. *Peto R., Doll R.* There is no such thing as aging // *Br. J. Med.* 1997. Vol. 315. P. 1030-1032.
111. *Peto R., Parish S.E., Gray R.G.* There is no such thing as ageing and cancer is not related to it // In: *Age-Related Factors in Carcinogenesis* / Likhachev A., Anisimov V., Montesano R., eds. (IARC Sci. Publ. No. 58). Lyon: IARC, 1985. P. 43-53.
112. *Peto R., Roe F.J.C., Lee P.N., Levy L., Clack J.* Cancer and ageing in mice and men // *Br. J. Cancer.* 1975. Vol. 32. P. 411-426.
113. *Pompei F., Wilson R.* Age distribution of cancer: the incidence turnover at old age. *Human Ecol. Risk Assessment.* 2001. Vol. 7. P. 1619-1650.
114. *Pompei F., Polkanov M., Wilson R.* Age distribution of cancer in mice: the incidence turnover at old age // *Toxicol. Industr. Health.* 2001. Vol. 17. P. 7-16;
115. *Ponten J.* Cell biology of precancer // *Eur. J. Cancer.* 2001. Vol. 37. P. S97-S113.
116. *Reddel R.R.* The role of senescence and immortalization in carcinogenesis // *Carcinogenesis.* 2000. Vol. 21. P. 477-484.
117. *Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F., Weissman I.L.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells // *Nature.* 2001. Vol. 414. P. 105-111.
118. *Rha S.Y. et al.* Changes of telomerase and telomere length in paired normal and cancer tissues of breast // *Int. J. Oncol.* 1999. Vol. 15. P. 839-845.
119. *Ries L.A.G., Eisner M.P., Kosary C.L. et al.* (Eds). *SEER Cancer Statistics Review, 1973-1998*, National Cancer Institute. Bethesda, MD, 2001.
120. *Rinehart C.A., Torti V.R.* Aging and cancer: The role of stromal interactions with epithelial cells // *Mol. Carcinogenesis.* 1997. Vol. 18. P. 187-192.
121. *Risch N., Reich E.W., Wishnick M.M., McCarthy J.G.* Spontaneous mutation and parental age in humans // *Am. J. Human Genet.* 1987. Vol. 41. P. 218-248.
122. *Roe F.J.C., Carter R.L., Mitchley R., Peto R., Hecker E.* On the persistence of tumor initiation and the acceleration of tumor progression in mouse skin tumorigenesis // *Int. J. Cancer.* 1972. Vol. 9. P. 264-273.
123. *Romanov S.R., Kozakiewicz B.K., Holst C.R. et al.* Normal human mammary epithelial cells spontaneously escape senescence and acquire genomic changes // *Nature.* 2001. Vol. 409. P. 633-637.
124. *Roth G.S., Ingram D.K., Cutler R.G., Lane M.A.* Biological effects of caloric restriction in primates // *Успехи геронтол.* 1999. Т. 3. С. 116-120.
125. *Rubin H.* Cell aging in vivo and in vitro // *Mech. Ageing Dev.* 1997. Vol. 98. P. 1-35.
126. *Rubin H.* Selected cell and selective microenvironment in neoplastic development // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 799-807.
127. *Rudolph K.L., Chang S., Lee H.W. et al.* Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice // *Cell.* 1999. Vol. 96. P. 701-712.
128. *Sacher G.A.* Life table modification and life prolongation. In: *Finch CE, Hayflick L, eds. Handbook of the Biology of Aging.* New York: Van Nostrand Reinhold, 1977. P. 582-638.
129. *Samper E., Flores J.M., Blasco M.A.* Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in *Terc^{-/-}* mice with short telomeres // *EMBO Reports.* 2001. Vol. 2. P. 800-807.
130. *Schlessinger D., Van Zant G.* Does functional depletion of stem cells drive aging? // *Mech. Ageing Dev.* 2001. Vol. 122. P. 1537-1553.
131. *Schmitt C.A.* Senescence, apoptosis and therapy - cutting the lifelines of cancer // *Nat. Rev. Cancer.* 2003. Vol. 3. P. 286-295.
132. *Serrano M., Blasco M.A.* Cancer and ageing: convergent and divergent mechanisms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007; 8:715-722.
133. *Serrano M., Lin A.W., McGurrach M.E. et al.* Oncogenic *ras* provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16^{INK4a}. *Cell.* 1997. Vol. 88. P. 593-602.
134. *Shelton D.N., Chang E., Whittier P.S. et al.* Microarray analysis of replicative senescence // *Current Biology.* 1999. Vol. 9. P. 939-945.
135. *Shigenaga M.K., Hogen T.M., Ames B.N.* Oxidative damage and mitochondrial decay in aging // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994. Vol. 91. P. 10771-10778.
136. *Simpson A.J.G.* A natural somatic mutation frequency and human carcinogenesis // *Adv. Cancer Res.* 1997. Vol. 71. P. 209-240.
137. *Skulachev V.P.* The programmed death phenomena, aging, and the Samurai law of biology // *Exp. Gerontol.* 2001. Vol. 36. P. 995-1024.
138. *Stenback F., Peto R., Shubik P.* Initiation and promotion at different ages and doses in 2200 mice. III. Linear extrapolation from high doses may underestimate lowdose tumour risks // *Br. J. Cancer.* 1981. Vol. 44. P. 2434.
139. *Stevens, R.G., 2005.* Circadian disruption and breast cancer. From melatonin to clock genes. *Epidemiology*, 16, 254-258.
140. *Stewart S.A., Weinberg R.A.* Senescence: does it all happen at the ends? // *Oncogene.* 2002. Vol. 21. P. 627-630.
141. *Takeda T.* Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research // *Neurobiol. Aging.* 1999. Vol. 20. P. 105-110.

142. Takubo K., Izumiyama-Shimomura N., Honma N. et al. Telomere length are characteristic in each human individual // Exp. Gerontol. 2002. Vol.37. P.523-531.
143. Tang D.G., Tokumoto Y.M., Apperly J.A., Lloyd A.C., Raff M.C. Lack of replicative senescence in cultured rat oligodendrocyte precursor cell // Science. 2001. Vol.291. P.868-871.
144. Tavoloni N., Inoue H. Cellular aging is a critical determinant of primary cell resistance to v-src transformation // J. Virol. 1997. Vol.71. P. 237-247.
145. Temme A., Buchmann A., Gabriel H.D. et al. High incidence of spontaneous and chemically induced liver tumors in mice deficient for connexin32 // Curr. Biol. 1997. Vol.7. P.713-716.
146. Teramoto S., Fukuchi Y., Uejima Y. et al. Influences of chronic tobacco smoke inhalation on aging and oxidant-antioxidant balance in the senescent accelerated mouse (SAM)P/2 // Exp. Gerontol. 1993. Vol.28. P.8795.
147. Thompson T.A., Haag J.D., Gould M.N. ras gene mutations are absent in NMU-induced mammary carcinomas from aging rat // Carcinogenesis. 2000. Vol.21. P.1917-1922.
148. Totter J.R. Spontaneous cancer and its possible relationship to oxygen metabolism // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1980. Vol.77. P.1763-1767.
149. Ukraintseva S.V., Yashin A.I. How individual age-associated changes may influence human morbidity and mortality patterns // Mech. Ageing Dev. 2001. Vol.122. P.1447-1460.
150. Ulrich P., Cerami A. Protein glycation, diabetes, and aging // Recent Progr. Horm. Res. 2001. Vol.56. P.1-21.
151. Van Duuren B.L., Sivak A., Katz C., Steidman I., Melchionne S. The effect of aging and interval between primary and secondary treatment in two-stage carcinogenesis on mouse skin // Cancer Res. 1975. Vol.35. P.502-505.
152. Van Steeg H., Klein H., Beems R.B., van Kreijl C.F. Use of DNA repair-deficient XPA transgenic mice in short-term carcinogenicity testing // Toxicol. Pathol. 1998. Vol.26. P.742-749.
153. Vaupel J.W., Yashin A.I. Heterogeneity's ruses: some surprising effects of selection on population dynamics // Am. Stat. 1985. Vol.39. P.176-185.
154. Vijg J. Somatic mutations and aging: a re-evaluation // Mutat. Res. 2000. Vol.447. P.117-135.
155. Vijg J., Dolle M.E.T. Genome instability: cancer or aging? // Mech Ageing Dev. 2007; 128: 466-468.
156. Vijg J., Busuttill R.A., Bahar R., Dolle M.E. Aging and genome maintenance // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005. Vol. 1055. P. 35-47.
157. von Zglinicki T., Burkle A., Kirkwood T.B.L. Stress, DNA damage and ageing - an integrative approach // Exp. Gerontol. 2001. Vol.36. P.1049-1062.
158. Ward J.M., Lynch P., Riggs C. Rapid development of hepatocellular neoplasms in aging male C3H/HeNcr mice given phenobarbital // Cancer Lett. 1988. Vol.39. P.9 18.
159. Weindruch R., Walford R. The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction. - Springfield, Ill.: C.C.Thomas, 1988. 310 p.
160. Wright W.E., Shay J.W. Telomere dynamics in cancer progression and prevention: fundamental differences in human and mouse telomere biology // Nature Medicine. 2000. Vol.6. P.849-851.
161. Wynford-Thomas D., Bond J.A., Wyllie F.S., Jones C.J. Does telomere shortening drive selection for p53 mutation in human cancer? // Mol. Carcinogenesis. 1995. Vol.12. P.119-123.
162. Xie H.Q., Hu V.W. Modulation of gap junction in senescent endothelial cells // Exp. Cell. Res., 1994. Vol. 214. P. 172-176.
163. Xu L., Bard M.Z. Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats: imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia // Horm. Metab. Res. 1999. Vol.31. P.278-282.
164. Yashin A.I., Begun A.S., Boiko S.I. et al. New age patterns of survival improvement in Sweden: do they characterize changes in individual aging? // Mech. Ageing Dev. 2002. Vol.123. P.637-647.
165. Yashin A.I., Ukraintseva S.V., Boiko S.I., Arbeev K.G. Individual aging and mortality rate: how are they related? // Social Biology. 2002. V. 49. P. 206-217.