

УДК 577:576.3:615

ЗДОРОВОЕ СТАРЕНИЕ: АНТИОКСИДАНТЫ, РАЗОБЩИТЕЛИ И/ИЛИ ТЕЛОМЕРАЗА?

© 2020 г. Е. Е. Егоров*

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: yegorov58@gmail.com

Поступила в редакцию 18.11.2019 г.

После доработки 13.12.2019 г.

Принята к публикации 14.12.2019 г.

Свободно-радикальная теория старения была предложена еще в 1956 г. Эта теория не полностью описывает механизмы старения, однако, активные формы кислорода (АФК) признаются одним из патогенетических факторов старения, особенно патологий, ассоциированных со старением. Главным источником АФК в клетке являются митохондрии. Для подавления избыточных АФК используют антиоксиданты, направленные в митохондрии. Это часто снижает проявления ассоциированных со старением патологий, но при этом антиоксиданты малоэффективны. Проблема состоит в том, что повышенные количества антиоксидантов нарушают окислительно-восстановительные реакции, а в ограниченном количестве они не могут серьезно повлиять на нормальные клеточные процессы. Более эффективным может быть снижение скорости образования АФК. Природный процесс разобщения окисления и фосфорилирования в митохондриях существенно уменьшает продукцию АФК. Слабый разобщитель динитрофенол продлевает жизнь мышей, уменьшает травматическое повреждение мозга, тормозит развитие целого ряда нейродегенеративных заболеваний. Под действием динитрофенола происходит уменьшение веса, снижение уровня глюкозы, триглицеридов и инсулина в плазме крови. К сожалению, динитрофенол имеет ряд недостатков, препятствующих его практическому использованию. Активация разобщения окислительного фосфорилирования свободными жирными кислотами, как природный механизм, может найти применение в медицине. Кроме антиоксидантов и разобщителей, способностью снижать уровень АФК обладает также теломераза, механизм действия которой мало изучен, но известно, что в условиях окислительного стресса теломераза транспортируется внутрь митохондрий и улучшает выживаемость клеток за счет снижения продукции АФК.

Ключевые слова: старение, разобщители, антиоксиданты, активные формы кислорода, митохондрии, теломераза

DOI: 10.31857/S0026898420030052

КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ (CELL SENESCENCE) И МИТОХОНДРИИ

В 1961 году была опубликована статья Леонарда Хейфлика (L. Hayflick) об ограниченном пролиферативном потенциале клеток человека, получившем в дальнейшем название “предел Хейфлика” [1]. Сам Хейфлик в более поздней работе 1965 года предположил, что феномен клеток “фазы III” (после остановки делений), вероятно, связан с процессами старения *in vivo* [2]. Работы Хейфлика положили начало цитогеронтологии, поскольку в предшествующие 60 лет господствовало мнение Алексиса Карреля (A. Carrel) о клеточном бессмертии [3], и причины старения организмов было принято искать не внутри клеток, а в их вза-

имоотношениях со средой и друг с другом. С этого времени в англоязычной научной литературе закрепился термин “cell senescence”, первоначально обозначающий процессы, сопровождающие остановку пролиферации клеток в культуре.

Учитывая, что явление, называемое в последние 55 лет “cell senescence”, — это активный процесс, имеющий вполне определенные механизмы, которые могут быть отключены, полагаю, что настала пора сделать перевод этого термина, чтобы отличать его от “cell aging”. Я предлагаю переводить “cell senescence”, как клеточная сенильность, поскольку такой термин уже знаком русскоязычным медикам.

Сокращения: АФК — активные формы кислорода, ДНФ — динитрофенол, UCP — uncoupling protein (разобщающий белок), mTOR — mammalian target of rapamycin (мишень рапамицина млекопитающих), BDNF — brain-derived neurotrophic factor (нейротрофический фактор мозга).

“Старение клеток” — очень общий термин. Обычно этим термином обозначают изменения, возникающие в клетках с течением времени без уточнения механизмов. Клеточная сенильность — это состояние, возникающее в клетке в ответ на повреждение или обнаружение неполадок, при котором клетка необратимо переходит в неделящееся состояние. С течением времени сенильность углубляется, на смену одним поддерживающим механизмам приходят другие [4–6]. Полагают, что главной функцией клеточной сенильности является защита от новообразований [7].

Теломерная теория объяснила природу лимита Хейфлика, но сразу стало ясно, что недорепликация теломер это лишь один из механизмов, ведущих к клеточной сенильности. С течением времени клеточной сенильностью стали называть разнообразные явления. Помимо исчерпания пролиферативного потенциала к клеточной сенильности стали относить длительную остановку пролиферации под воздействием разнообразных повреждений, всякого рода стрессов [8, 9], конфликта регуляции при активации некоторых онкогенов [10] и даже явления, сопровождающие раневой процесс [11] и нормальное эмбриональное развитие [12, 13].

На каком-то этапе развития произошло объединение теломерной и свободно-радикальной теорий. К недорепликации добавилась недорепарация [14]. Было показано, что потери теломерной ДНК возрастают в условиях окислительного стресса, далее работают такие же механизмы, как и при клеточной сенильности [15, 16]. Появились работы, показывающие, что митохондрии, вероятно, определяют скорость укорачивания теломер, поскольку являются основным источником активных форм кислорода (АФК) [17]. Более того, снижение количества митохондрий в клетках ведет к уменьшению доли сенильных клеток *in vivo* [18].

Логичным шагом стали попытки направления антиоксидантов в митохондрии. Оказалось, что антиоксиданты удлинляют, хоть и незначительно, среднюю продолжительность жизни мышей и других организмов, а также снижают симптоматику многих ассоциированных со старением патологий [19, 20]. При этом в опытах *in vitro* увеличить пролиферативный потенциал клеток под влиянием антиоксиданта, направленного в митохондрии (MitoQ), удавалось только в условиях незначительного окислительного стресса [21].

Стоит отметить, что и обычные антиоксиданты часто не оказывают положительного воздействия на пролиферацию клеток в культуре. Заслуживают внимания две ранние работы L. Packer и J.R. Smith [22, 23]. В 1974 г. они показали положительное влияние витамина Е на пролиферативный потенциал фибробластов человека в культуре. Спустя 3 г. они же сообщили, что им не удалось воспроизвести собственные результаты [23].

В 1991 г. был опубликован обзор о том, что антиоксиданты не способны увеличить пролиферативный потенциал первичных клеток в культуре [24]. Но уже в 1994 г. показали, что антиоксидант карнозин увеличивает пролиферативный потенциал фибробластов [25]. Нам удалось повторить этот результат. Установлено, что при редком посеве карнозин увеличивает размер колоний клеток и замедляет их переход в неделящееся состояние [26]. Но справедливо возникает вопрос об особенностях карнозина, которые уходят далеко за пределы простого антиоксиданта.

Наконец в 2019 г. сообщили, что антиоксиданты подавляют сенильность клеток в культуре [27].

Анализ этих работ выявляет ограничения свободно-радикальной теории старения. В отсутствие окислительного стресса антиоксиданты не способны положительно влиять на показатели старения. Примерно такой же результат получен и на животных (мышях), значимое увеличение продолжительности жизни которых наблюдалось только в условиях обычного вивария [20], тогда как в свободном от патогенов виварии антиоксиданты не удлиняли продолжительность жизни [20]. Культура клеток в этом контексте напоминает чистую изолированную систему, лишенную стрессовых воздействий, которая существенно отличается от условий внутри организма, подверженного всевозможным стрессам, связанным с работой иммунной системы.

МИТОХОНДРИИ, ПРОДУКЦИЯ АФК И РАЗОБЩЕНИЕ

Существенная часть нормальных реакций в клетке представлена окислительно-восстановительными реакциями, поэтому есть множество источников АФК и активных форм азота. В первую очередь, это митохондрии (дыхательная цепь и оксидоредуктазы), к которым можно добавить пероксисомы, эндоплазматический ретикулум, плазматическую мембрану, цитозоль, лизосомы, микросомы и даже ядерную оболочку [28]. В некоторых ситуациях основными источниками АФК могут быть не митохондрии. Так, при дыхательном взрыве нейтрофилов главным источником АФК становится NADPH-оксидаза. В печени это может быть цитохром-P450-монооксигеназная система микросом, при ишемии–реперфузии существенную роль играет ксантиноксидаза, при развитии воспаления — циклооксигеназы и липооксигеназы [29].

Основным источником АФК принято считать дыхательную цепь митохондрий, хотя некоторые ученые полагают, что при измерениях *in vitro* продукция АФК дыхательной цепью завышается в результате неадекватных экспериментальных условий [30].

Известно, что продукция АФК митохондриями зависит от ряда обстоятельств, среди которых

особо выделяют потенциал внутренней мембраны митохондрий; снижение потенциала ведет к уменьшению продукции АФК. Механизмы, связывающие потенциал внутренней мембраны и продукцию АФК, описаны многократно. Два наиболее очевидных механизма — локальное снижение концентрации кислорода и замедление транспорта электронов. Разобщение усиливает дыхание, что уменьшает локальную концентрацию кислорода, а поэтому и продукцию АФК [31, 32].

Разобщители — это вещества, которые увеличивают проницаемость внутренней мембраны митохондрий для протонов, что ведет к уменьшению протонного градиента. АТР-синтаза, также называемая комплексом V, — это фермент внутренней мембраны митохондрий, использующий энергию протонного градиента для синтеза АТР из АДФ и фосфата. При критическом снижении градиента протонов синтез АТР становится невозможным. Реакции окисления при этом продолжают, т.е. наступает разобщение окисления и фосфорилирования. Энергия перестает запасаться в виде АТР и расходуется в виде тепла.

Давно известно, что подавить продукцию АФК можно с помощью разобщителей [33]. Первоначально полагали, что функции разобщителей состоят только в генерации тепла, однако замечено, что окислительный стресс увеличивает экспрессию белков-разобщителей, которые встраиваются во внутреннюю мембрану, снижают градиент протонов, уменьшая тем самым продукцию АФК [34–36].

Наиболее хорошо изучен белок-разобщитель термогенин (UCP1) из бурого жира [37]. Действие холода ведет к повышению продукции АФК митохондриями, а термогенез (разобщение) включается только при условии окислительной модификации UCP1 по остатку цистеина 253. Инактивация АФК митохондриальным антиоксидантом MitoQ или восстановление редокс-потенциала с помощью N-ацетилцистеина блокирует термогенез. Возможно, что другие белки-разобщители (UCP2–5) работают по аналогичной схеме: в ответ на окислительный стресс запускают разобщение, которое снижает продукцию АФК [38]. Известны варианты генов белков-разобщителей, связанные с долгожительством, что косвенно указывает на их роль в борьбе с окислительным стрессом [39].

ВЛИЯНИЕ РАЗОБЩИТЕЛЕЙ НА ЗДОРОВЬЕ

Динитрофенол (ДНФ) известен науке с 19-го века. В 1930-е годы ДНФ применяли для снижения веса, и в США с этой целью было выписано около 100 000 рецептов этого препарата. Потом ДНФ был запрещен из-за его побочных эффектов (летальный перегрев организма, возникновение ка-

таракт). В наше время ведутся работы, направленные на модификацию ДНФ и ограничение его токсичности (“Mitochon Pharmaceuticals Inc.”, США). В 2013 г. о ДНФ сообщили как о препарате, направляемом в печень [40]. Результаты оказались весьма обнадеживающими: жировое перерождение печени уходило, снижался уровень триглицеридов плазмы, уменьшалась резистентность к инсулину. Аналогичный результат достигнут и с помощью ДНФ, растворенного в масле [41]. Еще один разобщитель — никлозамид, разрешен к применению при глистных инвазиях. Он увеличивает энергетические затраты у мышей, уменьшает накопление жира в печени и снижает резистентность к инсулину — все это эффекты блокирования метаболического синдрома [42].

Показано, что ДНФ увеличивает продолжительность жизни мышей, как и направленные в митохондрии антиоксиданты. При этом наблюдалось повышение тканевого дыхания, уменьшение веса, снижение уровня глюкозы и триглицеридов в плазме. Все это достигалось при очень низкой дозировке ДНФ, примерно 100 мкг/день (в сотни раз ниже дозы, которую прописывали в 1930-е годы) [43]. ДНФ вызывал также увеличение средней продолжительности жизни мух, не влияя на максимальную [44].

Показано, что ДНФ снижает чрезмерное накопление кальция в митохондриях, уменьшая вероятность открытия митохондриальных пор и развития апоптоза при повреждениях [45]. ДНФ снижает активность mTOR и сигнального пути инсулина, активирует аутофагию и в 3 раза усиливает выработку BDNF. Возможно, эти эффекты ответственны за вызываемое ДНФ уменьшение повреждений нервной ткани при травме и в различных модельных системах ([46] и ссылки там).

ДАЛЬНЕЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ. ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ

На сегодняшний день можно выделить два, возможно три, выработанных естественным образом принципиально разных механизма борьбы с избытком АФК:

1. Разнообразные антиоксидантные системы;
2. Механизмы снижения потенциала внутренней мембраны митохондрий за счет увеличения ее проницаемости для протонов;
3. Действие теломеразы по еще не изученному механизму, связанному, видимо, с воздействием на митохондриальный геном.

В 21-ом веке было сделано удивительное открытие. Теломераза оказалась одним из участников ответа клеточного ядра на окислительный стресс. В условиях окислительного стресса теломеразный белок экспортируется из ядра и импор-

тируется в митохондри, вызывая снижение продукции АФК [47, 48].

Таким образом, оказалось, что две функции теломеразы – противостояние недорепликации и недорепарации теломер – логично связаны.

Замечательный результат получен на мышцах со сверхдлинными теломерами (а значит, возможно, с повышенной активностью теломеразы, хотя эти данные не приведены [49]). Эти мышцы обладают теми же особенностями, которые вызывают направленные в митохондрии антиоксиданты и разобщители, а именно, имеют увеличенную продолжительность жизни, сниженный вес, уменьшенное накопление липидов, сниженный уровень холестерина и липопротеидов плазмы, повышенную чувствительность к инсулину, у них быстрее снижается уровень глюкозы.

Одно из интересных свойств антиоксидантов, направленных в митохондрии, – снижение потенциала внутренней мембраны [50, 51]. Возможно, что определенная доля их эффективности связана с действием на потенциал внутренней мембраны и соответствующим уменьшением продукции АФК.

В.П. Скулачев с коллегами в 2010 г. описал удивительный феномен направленного в митохондрии протонофора [52]. Оказалось, что направленный в митохондрии антиоксидант и свободная жирная кислота могут работать вместе сразу по двум механизмам (соединение механизмов 1 и 2 в одном).

К сожалению, ДНФ и аналогичные разобщители, действующие в одиночку и неспецифичные к различным мембранам, имеют ряд недостатков. Это, прежде всего, неравномерность распределения в организме, связанная с этим малая терапевтическая широта и, соответственно, побочные эффекты. Эффективность ДНФ сильно ограничена малым временем жизни, не позволяющим поддерживать его концентрацию в организме продолжительное время.

Известно, что свободные жирные кислоты являются природными разобщителями, которые работают во взаимодействии с разобщающими белками. При этом экспрессия разобщающих белков связана с окислительным стрессом. Таким образом, белки-разобщители нацеливают жирные кислоты именно на снижение окислительного стресса.

Возможно, что будет разработана технология введения определенных жирных кислот в организм с целью вызвать слабое разобщение. Большой успех достигнут при использовании дейтерированных полиненасыщенных жирных кислот. Замена атома водорода на дейтерий в определенных позициях (*бис*-аллильных) между двойными связями снижает вероятность окисления жирной кислоты за счет кинетического изотопного эффекта и тем самым тормозит распространение перекисного окисления липидов [53].

Перекисное окисление липидов – один из важных патогенетических механизмов развития ряда нейродегенеративных болезней, его торможение существенно снижает повреждение мембран и уменьшает проявления болезней в модельных системах, в том числе болезней Альцгеймера и Паркинсона, хорей Гентингтона и атаксии Фридрейха [54]. Показано, что дейтерированные жирные кислоты снижают окислительный стресс и удлиняют продолжительность жизни *Caenorhabditis elegans* [54].

Вопрос о введении в организм свободных жирных кислот необычайно сложен ввиду разнообразных токсических последствий контакта определенных жирных кислот с разными типами клеток. Результаты опытов *in vitro* часто противоречивы, что в сумме можно объяснить недостаточным пониманием процессов, происходящих на пересечении физики, химии и биологии. Во всяком случае, нами показано, что накожная аппликация препарата, состоящего в основном из жирных кислот, вызывает разнообразные эффекты, ассоциированные с подавлением фенотипа старения *in vivo* [55].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 19-04-01071.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hayflick L., Moorhead P.S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* **25**, 585–621.
[https://doi.org/10.1016/0014-4827\(61\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0014-4827(61)90192-6)
- Hayflick L. (1965) The limited *in vitro* life time of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* **37**, 614–636.
- Carrel A. (1912) On the permanent life of tissues outside of the organism. *J. Exp. Med.* **15**, 516–528.
- van Deursen J.M. (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature.* **509**, 439–446.
<https://doi.org/10.1038/nature13193>
- Rhinn M., Ritschka B., Keyes W.M. (2019) Cellular senescence in development, regeneration and disease. *Development.* **146**, dev151837.
<https://doi.org/10.1242/dev.151837>
- Herranz N., Gil J. (2018) Mechanisms and functions of cellular senescence. *J. Clin. Invest.* **128**, 1238–1246
<https://doi.org/10.1172/JCI95148>
- Campisi J. (2013) Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu. Rev. Physiol.* **75**, 685–705.
<https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183653>
- Chen J.H., Ozanne S.E., Hales C.N. (2007) Methods of cellular senescence induction using oxidative stress. *Methods Mol. Biol.* **371**, 179–189.

9. Achuthan S., Santhoshkumar T.R., Prabhakar J., Nair S.A., Pillai M.R. (2011) Drug-induced senescence generates chemoresistant stemlike cells with low reactive oxygen species. *J. Biol. Chem.* **286**, 37813–37829.
10. Di Micco R., Fumagalli M., Cicalese A., Piccinin S., Gasparini P., Luise C., Schurra C., Garré M., Nuciforo P.G., Bensimon A., Maestro R., Pelicci P.G., d'Adda di Fagagna F. (2006) Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature*. **444**, 638–642.
11. Demaria M., Ohtani N., Youssef S.A., Rodier F., Toussaint W., Mitchell J.R., Laberge R.M., Vijg J., Van Steeg H., Dollé M.E., Hoeijmakers J.H., de Bruin A., Hara E., Campisi J. (2014) An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Dev. Cell.* **31**, 722–733.
12. Muñoz-Espín D., Cañamero M., Maraver A., Gómez-López G., Contreras J., Murillo-Cuesta S., Rodríguez-Baeza A., Varela-Nieto I., Ruberte J., Collado M., Serrano M. (2013) Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell*. **155**, 1104–1118.
13. Storer M., Mas A., Robert-Moreno A., Pecoraro M., Ortells M.C., Di Giacomo V., Yosef R., Pilpel N., Krizhanovsky V., Sharpe J., Keyes W.M. (2013) Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning. *Cell*. **155**, 1119–1130.
14. Оловников А.М. (1995) Об эффекте концевой недорепликации, или неполной репарации конца линейной двуспиральной молекулы ДНК. *Известия РАН. Серия биол.* № 4, 501–503.
15. von Zglinicki T. (2000) Role of oxidative stress in telomere length regulation and replicative senescence. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **908**, 99–110. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06639.x>
16. Hewitt G., Jurk D., Marques F.D., Correia-Melo C., Hardy T., Gackowska A., Anderson R., Taschuk M., Mann J., Passos J.F. (2012) Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence. *Nat. Commun.* **3**, 708. <https://doi.org/10.1038/ncomms1708>
17. Passos J.F., Saretzki G., Ahmed S., Nelson G., Richter T., Peters H., Wappler I., Birket M.J., Harold G., Schaeuble K., Birch-Machin M.A., Kirkwood T.B., von Zglinicki T. (2007) Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere-dependent senescence. *PLoS Biol.* **5**, e110.
18. Correia-Melo C., F. Marques D.M., Anderson R., Hewitt G., Hewitt R., Cole J., Carroll B.M., Miwa S., Birch J., Merz A., Rushton M.D., Charles M., Jurk D., Tait S.W., Czapiewski R., Greaves L., Nelson G., Bohlooly-Y.M., Rodriguez-Cuenca S., Vidal-Puig A., Mann D., Saretzki G., Quarato G., Green D.R., Adams P.D., von Zglinicki T., Korolchuk V.I., Passos J.F. (2016) Mitochondria are required for pro-ageing features of the senescent phenotype. *EMBO J.* **35**, 724–742.
19. Schriener S.E., Linford N.J., Martin G.M., Treuting P., Ogburn C.E., Emond M., Coskun P.E., Ladiges W., Wolf N., Van Remmen H., Wallace D.C., Rabinovitch P.S. (2005) Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science*. **308**, 1909–1911.
20. Anisimov V.N., Egorov M.V., Krasilshchikova M.S., Lyamzaev K.G., Manskikh V.N., Moshkin M.P., Novikov E.A., Popovich I.G., Rogovin K.A., Shabalina I.G., Shekarova O.N., Skulachev M.V., Titova T.V., Vygodin V.A., Vyssokikh M.Y., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. (2011) Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents. *Aging*. **3**, 1110–1119. <https://doi.org/10.18632/aging.100404>
21. Saretzki G., Murphy M.P., von Zglinicki T. (2003) MitoQ counteracts telomere shortening and elongates lifespan of fibroblasts under mild oxidative stress. *Aging Cell*. **2**, 141–143.
22. Packer L., Smith J.R. (1974) Extension of the lifespan of cultured normal human diploid cells by vitamin E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **71**, 4763–47671.
23. Packer L., Smith J.R. (1977) Extension of the lifespan of cultured normal human diploid cells by vitamin E: a re-evaluation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **74**, 1640–1641.
24. Poot M. (1991) Oxidants and antioxidants in proliferative senescence. *Mutat. Res.* **256**, 177–189.
25. McFarland G.A., Holliday R. (1994) Retardation of the senescence of cultured human diploid fibroblasts by carnosine. *Exp. Cell Res.* **212**, 167–175.
26. Вишнякова Х.С., Бабижаев М.А., Алипер А.М., Буздин А.А., Кудрявцева А.В., Егоров Е.Е. (2014) Стимуляция пролиферации карнозином: клеточный и транскриптомный подход. *Молекуляр. биология*. **48**, 824–833.
27. Liao N., Shi Y., Zhang C., Zheng Y., Wang Y., Zhao B., Zeng Y., Liu X., Liu J. (2019) Antioxidants inhibit cell senescence and preserve stemness of adipose tissue derived stem cells by reducing ROS generation during long-term *in vitro* expansion. *Stem Cell Res. Therapy*. **10**, 306. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1404-9>
28. Roy J., Galano J.-M., Durand T., Le Guennec J.-Y., Lee J.C. (2017) Physiological role of reactive oxygen species as promoters of natural defenses. *FASEB J.* **31**, 3729–3745.
29. Meo S.D., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M. (2016) Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxidant. Med. Cell. Longevity*. **2016**, Article ID 1245049, 44. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
30. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. (2013) Генерация активных форм кислорода митохондриями. *Успехи биол. химии*. **53**, 245–296.
31. Kowaltowski A.J., de Souza-Pinto N.C., Castilho R.F., Vercesi A.E. (2009) Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radic. Biol. Med.* **47**, 333–343.
32. Murphy M.P. (2009) How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem. J.* **417**, 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>

33. Miwa S., Brand M.D. (2003) Mitochondrial matrix reactive oxygen species production is very sensitive to mild uncoupling. *Biochem. Soc. Trans.* **31**, 1300–1301.
34. Pecqueur C., Alves-Guerra M.-C., Gelly C., Levi-Meyrueis C., Couplan E., Collins S., Ricquier D., Bouillaud F., Miroux B. (2001) Uncoupling protein 2, *in vivo* distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. *J. Biol. Chem.* **276**, 8705–8712.
35. Andrews Z.B., Diano S., Horvath T.L. (2005) Mitochondrial uncoupling proteins in the CNS: in support of function and survival. *Nat. Rev. Neurosci.* **6**, 829–840.
36. Liu D., Chan S.L., de Souza-Pinto N.C., Slevin J.R., Wersto R.P., Zhan M., Mustafa K., de Cabo R., Mattson M.P. (2006) Mitochondrial UCP4 mediates an adaptive shift in energy metabolism and increases the resistance of neurons to metabolic and oxidative stress. *Neuromol. Med.* **8**, 389–414.
37. Chouchani E.T., Kazak L., Jedrychowski M.P., Lu G.Z., Erickson B.K., Szpyt J., Pierce K.A., Laznik-Bogoslavski D., Vetrivelan R., Clish C.B., Robinson A.J., Gygi S.P., Spiegelman B.M. (2016) Mitochondrial ROS regulate thermogenic energy expenditure and sulfenylation of UCP1. *Nature.* **532**, 112–116.
38. Mookerjee S.A., Divakaruni A.S., Jastroch M., Brand M.D. (2010) Mitochondrial uncoupling and lifespan. *Mech. Ageing Dev.* **131**, 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.03.010>
39. Rose G., Crocco P., De Rango F., Montesanto A., Passarino G. (2011) Further support to the uncoupling-to-survive theory: the genetic variation of human UCP genes is associated with longevity. *PLoS One.* **6**, e29650. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029650>
40. Perry R.J., Kim T., Zhang X.M., Lee H.Y., Pesta D., Popov V.B., Zhang D., Rahimi Y., Jurczak M.J., Cline G.W., Spiegel D.A., Shulman G.I. (2013) Reversal of hypertriglyceridemia, fatty liver disease, and insulin resistance by a liver-targeted mitochondrial uncoupler. *Cell Metabolism.* **18**, 740–748. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.10.004>
41. Perry R.J., Zhang D., Zhang X.M., Boyer J.L., Shulman G.I. (2015) Controlled-release mitochondrial protonophore reverses diabetes and steatohepatitis in rats. *Science.* **347**, 1253–1256.
42. Tao H., Zhang Y., Zeng X., Shulman G.I., Jin S. (2014) Niclosamide ethanolamine-induced mild mitochondrial uncoupling improves diabetic symptoms in mice. *Nat. Med.* **20**, 1263–1269.
43. Caldeira da Silva C.C., Cerqueira F.M., Barbosa L.F., Medeiros M.H., Kowaltowski A.J. (2008) Mild mitochondrial uncoupling in mice affects energy metabolism, redox balance and longevity. *Ageing Cell.* **7**, 552–560. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00407.x>
44. Падалко В.И. (2005) Разобшиитель окислительного фосфорилирования продлевает жизнь дрозофил. *Биохимия.* **70**, 1193–1197.
45. Liu D., Zhang Y., Gharavi R., Park H.R., Lee J., Siddiqui S., Telljohann R., Nassar M.R., Cutler R.G., Becker K.G., Mattson M.P. (2015) The mitochondrial uncoupler DNP triggers brain cell mTOR signaling network reprogramming and CREB pathway up-regulation. *J. Neurochem.* **134**, 677–692.
46. Geisler J.G. (2019) 2,4-Dinitrophenol as medicine. *Cells.* **8**, 280. <https://doi.org/10.3390/cells8030280>
47. Miwa S., Czapiewski R., Wan T., Bell A., Hill K.N., von Zglinicki T., Saretzki G. (2016) Decreased mTOR signalling reduces mitochondrial ROS in brain via accumulation of the telomerase protein TERT within mitochondria. *Ageing.* **8**, 2551–2567.
48. Green P.D., Sharma N. K., Santos J.H. (2019) Telomerase impinges on the cellular response to oxidative stress through mitochondrial ROS-mediated regulation of autophagy. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 1509. <https://doi.org/10.3390/ijms20061509>
49. Muñoz-Lorente M.A., Cano-Martin A.C., Blasco M.A. (2019) Mice with hyper-long telomeres show less metabolic aging and longer lifespans. *Nat. Commun.* **10**, 4723. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12664-x>
50. Trnka J., Elkalaf M., Andel M. (2015) Lipophilic triphenylphosphonium cations inhibit mitochondrial electron transport chain and induce mitochondrial proton leak. *PLoS One.* **10**, e0121837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121837>
51. Antonenko Y.N., Khailova L.S., Knorre D.A., Markova O.V., Rokitskaya T.I., Ilyasova T.M., Severina I.I., Kotova E.A., Karavaeva Y.E., Prikhodko A.S., Severin F.F., Skulachev V.P. (2013) Penetrating cations enhance uncoupling activity of anionic protonophores in mitochondria. *PLoS One.* **8**, e61902. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061902>
52. Severin F.F., Severina I.I., Antonenko Y.N., Rokitskaya T.I., Cherepanov D.A., Mokhova E.N., Vysokikh M.Y., Pustovidko A.V., Markova O.V., Yaguzhinsky L.S., Korshunova G.A., Sumbatyan N.V., Skulachev M.V., Skulachev V.P. (2010) Penetrating cation/fatty acid anion pair as a mitochondria-targeted protonophore. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 663–668. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0910216107
53. Andreyev A.Y., Tsui H.S., Milne G.L., Shmanai V.V., Bekish A.V., Fomich M.A., Pham M.N., Nong Y., Murphy A.N., Clarke C.F., Shchepinov M.S. (2015) Isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids protect mitochondria from oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* **82**, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.12.023>
54. Beaudoin-Chabot C., Wang L., Smarun A.V., Vidović D., Shchepinov M.S., Thibault G. (2019) Deuterated polyunsaturated fatty acids reduce oxidative stress and extend the lifespan of *C. elegans*. *Front. Physiol.* **10**, 641. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00641>
55. Vishnyakova K.S., Vetkova L.G., Jasko M.V., Aliper A.M., Buzdin A.A., Popov K.V., Kudryavtseva A.V., Yegorov Y.E. (2018) Hair growth stimulation by a natural remedy: animal studies. *Madridge J. Dermatol. Res.* **3**, 38–45. <https://doi.org/10.18689/mjdr.2018-109>

HEALTHY AGING: ANTIOXIDANTS, UNCOUPLERS AND/OR TELOMERASE?

Y. E. Yegorov *

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

**e-mail: yegorov58@gmail.com*

The free radical theory of aging was proposed in 1956. Although it does not fully describe the mechanisms of aging, it is generally accepted that reactive oxygen species (ROS) are one of the pathogenetic factors of aging and, in particular, the development of pathologies associated with aging. The main source of ROS in the cell is mitochondria. Antioxidants directed to mitochondria have a positive effect, but are low efficient. The problem is that increased amounts of antioxidants disrupt normal cellular redox reactions, and a limited amount of antioxidants is not able to seriously affect the processes. Protection against ROS can be more effective if the rate of their formation is reduced. There is a natural mitochondrial uncoupling process that significantly reduces ROS production. A weak uncoupler dinitrophenol (DNF) prolongs the life span of mice, reduces traumatic brain damage, and inhibits the development of a number of neurodegenerative diseases. Unfortunately, DNF has a number of disadvantages that hinder its practical use. Dissociation of oxidative phosphorylation by free fatty acids is a natural mechanism, the activation of which can be used in medicine. The third (after antioxidants and uncouplers), but so far little studied, method of reducing ROS is telomerase, which, under conditions of oxidative stress, is transported into the mitochondria and improves cell survival by reducing ROS production.

Keywords: aging, uncoupling, antioxidants, cells, reactive oxygen species, mitochondria, telomerase