



Сенесенс. Сердце. Сенотерапия

Крыжановский С. А., Вититнова М. Б.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Сенесенс — клеточное старение — особая форма гибели клетки, характеризующаяся необратимой утратой клеткой её пролиферационного потенциала и развитием устойчивости к апоптозу. В основе сенесенса лежит истирание (укорочение) теломер, происходящее при каждом последующем делении клетки, что, в конечном итоге, приводит к устойчивому повреждению ДНК и последующей активации программы клеточного старения. Сенесцентным клеткам присущ уникальный так называемый сенесенс-ассоциированный секреторный фенотип (SASP), т. е. способность стареющих клеток секретировать во внеклеточную среду большое количество патогенных факторов, действующих паракринно на неповреждённые клетки и переводящих их в состояние сенесенса. В обзоре литературы рассматриваются известные механизмы, ответственные за формирование различных типов сенесенса, описываются особенности сенесенс-обусловленного поражения сердца и приводится подробная характеристика биологически активных соединений и лекарственных средств, обладающих сенолитической (активаторы апоптоза) и/или сеностатической (ингибиторы SASP) активностью..

Ключевые слова: клеточная гибель; теломеры; сенесенс; сенесенс-ассоциированный секреторный фенотип; сенолитики; сеностатики

Для цитирования:

Крыжановский С. А., Вититнова М. Б. Сенесенс. Сердце. Сенотерапия. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(3):3–19. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-3-3-19>. EDN: EZRHZW

Поступила: 03.08.2024. **В доработанном виде:** 05.09.2024. **Принята к печати:** 24.09.2024. **Опубликована:** 30.09.2024.

Senesens. Heart. Senotherapy

Sergey A. Kryzhanovskii, Marina B. Vititnova

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Senescence — cellular aging — is a special form of cell death, characterized by the cell's irreversible loss of its proliferation potential and the development of resistance to apoptosis. Senescence is based on the attrition (shortening) of telomeres that occurs with each subsequent cell division, which ultimately leads to sustained DNA damage and subsequent activation of the cellular aging program. Senescent cells have a unique so-called senescence-associated secretory phenotype (SASP), i.e. the ability of aging cells to secrete into the extracellular environment a large number of pathogenic factors that act paracrine on undamaged cells and transfer them to a state of senescence. The literature review examines the known mechanisms responsible for the formation of various types of senescence, describes the features of senescence-related cardiac damage, and provides a detailed description of biologically active compounds and drugs with senolytic (apoptosis activators) and/or senostatic (SASP inhibitors) activity.

Keywords: cell death; senescence telomeres; senescence-associated secretory phenotype; senolytics; senostatics

For citations:

Kryzhanovskii SA, Vititnova MB. Senesens. Heart. Senotherapy. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(3):3–19. (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-3-3-19>. EDN: EZRHZW

Received: 03.08.2024. **Revision received:** 05.09.2024. **Accepted:** 24.09.2024. **Published:** 30.09.2024.

Введение / Introduction

Впервые о возможности/наличии регулируемой клеточной гибели сообщил в 1841 году немецкий естествоиспытатель *Карл Фогт*, показавший присутствие в организме здоровых жаб отмирающих клеток [1]. Однако интерес к этой проблеме возник лишь в 1972 году, после публикации в журнале *Bг. J. Cancer* результатов исследования *Д. Керра с соавт.*, которые показали, что так называемый «усадочный» (shrinkage) некроз может возникать в ответ на физиологические стимулы и, по-видимому, играет дополнительную, но противоположную митозу, роль в регуляции популя-

ций клеток животных и также может быть вовлечён как в физиологическую инволюцию, так и в атрофию различных тканей и органов [2]. *Kerr JF с соавт.* определили этот процесс как форму запрограммированной клеточной гибели (PCD) с морфологическими признаками, которые отличают её от некроза, и предложили назвать этот феномен в противоположность митозу апоптозом.

В отличие от случайной клеточной гибели (ACD) — мгновенной и катастрофической гибели клеток, подвергшихся экстремальным воздействиям физического (например, высокое давление, температура), химического (например, резкие колебания pH)

и/или механического (например, сдвигающие усилия) характера, — в основе PCD лежит тот или иной молекулярный механизм [3].

Ранние классификации PCD были основаны на визуальных, морфогистологических характеристиках изменений, выявляемых в отдельных отмирающих клетках, и включали в себя некроз, онкотический некроз, апоптоз, апоптонекроз [4–6].

Однако накопленный за последние десятилетия материал достаточно подробно раскрыл и охарактеризовал набор генетически закодированных внутриклеточных программ целенаправленного удаления избыточных, необратимо повреждённых и/или потенциально «токсичных» клеток [7, 8] и позволил выделить следующие формы PCD: ферроптоз, пироптоз, некроптоз, партанатоз, энтоическую гибель клеток, нетотическую гибель клеток, аноикоз, некроз, управляемый МРТ, лизосомозависимую, аутофагозависимую и иммуногенную гибель клеток [9, 10].

Помимо PCD, выделяют особую форму гибели клетки — клеточное старение, сенесенс — характеризующуюся необратимой утратой клеткой её пролиферационного потенциала, т. е. постоянной остановкой клеточного цикла, при этом клетка становится устойчивой к апоптозу [11]. Фундаментальные изыскания в области патобиологии сенесенса, проведённые за последние два десятилетия, привели к появлению нового направления исследований — созданию нового класса препаратов — сенотерапевтических лекарственных средств, которые способны использовать различия между стареющими и нестареющими клетками для селективной индукции апоптоза в сенесцентных клетках и/или подавления их секреторного фенотипа [12–14]. Полагают, что наиболее перспективными в этом плане являются препараты, «нацеленные» на антиапоптотические пути, активирующиеся в сенесцентных клетках [15, 16].

Сенесенс. Общие положения / Senesens. General provisions

В 1891 году немецкий зоолог, один из основоположников эволюционного учения Фридрих Вейсман предположил, что «смерть организма наступает из-за того, что изношенная ткань не может вечно обновляться, и, следовательно, способность к увеличению продолжительности жизни посредством клеточного деления не вечна, а конечна» [17]. Через 80 лет, в 1961 году, американские геронтологи Хейфлик Л. и Мурхед П. предложили термин «senescence» или «cellular senescence» (SnCs или SNC), который подразумевал под собой клеточное старение, отличающийся по смыслу от термина «старение организма», обозначаемое словом «aging» [18]. Авторы показали, что после прохождения определённого количества делений (от 50 до 60 раз), нормальные человеческие диплоидные фибробласты перестают делиться и вступают в необратимое состояние — реплицирующее старение. Позднее число делений клеток, завершённых до достижения

конца их реплицирующей продолжительности жизни, было названо пределом Хейфлика. 10 лет спустя первое объяснение этому феномену дал отечественный биолог Оловников А.М., который показал, что лимит клеточных делений связан с постепенным укорочением концевых участков ДНК — теломер [19].

Теломеры представляют собой повторяющиеся последовательности ДНК, связанные с белковым комплексом, известным как шелтерин (комплекс, защищающий теломеры от механизмов репарации ДНК и регулирующий активность обратной транскриптазы — теломеразы) [20]. Шелтерин, в свою очередь, формирует так называемые лариате — «защитные Т-петли или колпачки, t-loops», обеспечивающие общий механизм защиты и репликации теломер [21]. Согласно современным представлениям, укорачивание теломер при каждом последующем делении клетки в конечном итоге разрушает защитный колпачок, приводя к устойчивому повреждению ДНК и последующей активации программы клеточного старения [21].

Сенесцентные клетки, в отличие от нормальных, плоские, увеличены в размерах и зачастую многоядерные [22]. Поскольку сенесцентные клетки характеризуются необратимой остановкой роста либо в G 1, либо в G 2 /м фазе клеточного цикла, они больше не могут делиться [23]. В цитоплазме сенесцентных клеток отсутствуют пролиферативные маркеры (например, маркер пролиферации MKI67, он же Ki67, и бромдезоксисуридин — BrdU), однако в большом количестве представлены супрессоры опухолевого роста и ингибиторы клеточного цикла (белки p15, p16^{INK4a}, p21^{CIP1/WAF1}, p27, p57, фактор рибозилирования аденозиндифосфата — ARF и белок ретинобластомы — Rb) [24]. Сенесцентные клетки содержат в своем составе измененный хроматин, так называемые сенесенс-ассоциированные гетерохроматиновые фокусы (SAHF). Эти изменения в хроматине связаны со стабильной репрессией генов-мишеней E2F, происходят только в сенесцентных клетках и отсутствуют в клетках, в которых остановка клеточного цикла обратима [24].

Выделяют три типа SnCs [15]:

- *физиологический сенесенс* или *реплицирующее старение* (RS). Теломеры — концевые участки хромосом — во время деления клетки реплицируются не полностью, что приводит к их истиранию. Длина теломеров прогрессивно сокращается при репликации ядерной ДНК во время митоза, и когда истирание (укорочение) теломеров превышает физиологический диапазон, оно распознается как повреждение ДНК и вызывает реплицирующее клеточное старение [23];

- *стресс-обусловленный сенесенс* или *вызванное стрессом преждевременное старение* (SIPS). Стресс-обусловленный сенесенс развивается вследствие как внешних патологических воздействий, например радиоактивного облучения, так и внутриклеточных стресс-активирующих процессов, например окислительного или метаболического стресса [25, 26].

• **онкоген-индуцированный сенесценс (OIS)** является мощным внутренним механизмом подавления роста опухолей, останавливающим прогрессирование клеточного цикла при геномных изменениях, активирующих онкоген.

Сенесцентные клетки содержат в своём составе измененный хроматин, так называемые сенесценс-ассоциированные гетерохроматиновые фокусы (SAHF). Эти изменения в хроматине связаны со стабильной репрессией генов-мишеней E2F, происходят только в сенесцентных клетках и отсутствуют в клетках, в которых остановка клеточного цикла обратима [24].

Сенесцентным клеткам присущ уникальный так называемый сенесценс-ассоциированный секреторный фенотип (*senescence-associated secretory phenotype* — SASP), т. е. способность стареющих клеток секретировать во внеклеточную среду большое количество патогенных факторов, действующих паракринно на неповреждённые клетки. К таковым относятся:

- воспалительные цитокины (интерлейкин IL-1, IL-1b, IL 6, IL-7, IL-13 и IL-15);
- хемокины [IL-8, рост-регулирующие онкогены (GRO-) — GRO- α , GRO- β и GRO- γ ; моноцитарный хемоаттрактантный белок (MCP), син. лиганд 2 хемокина (C-C мотив) (CCL2); воспалительные белки макрофагов (MIP) MIP-1 α или CCL3 и MIP-1 β или CCL4; бета-C-C-хемокин-4 человека (HCC-4); эотаксин-3; экспрессируемый тимусом хемокин, син. лиганд-25 хемокина мотива C-C (CCL-25); хемокин-5 мотива C-X-C (CXCL-5 или ENA78), лиганд 1 хемокина (мотив C-C) — CCL-1 или I-309; хемокин 11 мотива C-X-C — CXCL-11 или I-TAC];
- факторы роста и ангиогенеза — амфирегулин (AREG), ангиогенин (ANG), эпирегулин (EPR), нерегулин или фактор дифференцировки нейронов (NDF), эпидермальный фактор роста (EGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), инсулиноподобные белки, связывающие фактор роста — IGFBP (IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-6 и IGFBP-7), фактор роста кератиноцитов (KGF), фактор роста нервов (NGF), фактор роста плаценты (PIGF), фактор стволовых клеток (SCF), фактор, происходящий из клеток стромы-1 (SDF-1), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF);
- матриксные металлопротеиназы — MMP (MMP-1, MMP-3, MMP-10, MMP-12, MMP-13, и MMP-14);
- ингибиторы металлопептидазы — TIMP (TIMP-1 и TIMP-2);
- ингибиторы активатора плазминогена — PAI (PAI-1 и PAI-2);
- тканевой активатор плазминогена (tPA),
- активатор плазминогена урокиназного типа (uPA);
- катепсин В;
- рецепторы/лиганды [рецептор эпидермального фактора роста — EGF, апоптозный антиген 1 (APO-1 или Fas — рецептор, молекулы межклеточной адгезии — ICAM (ICAM-1 и ICAM-3), остеопротегерин (OPG),

рецептор uPA, растворимый белок gp130 (SGP130), растворимые рецепторы фактора некроза опухоли — sTNFRs (sTNFR-I, sTNFR-II) и рецептор-приманка 1 (DCR-1 или TRAIL-R3)];

- оксид азота (NO);
- простагландин E2 (PGE2);
- активные формы кислорода (ROS);
- нерастворимые факторы (коллагены, фибронектин и ламинин) [22, 27, 28].

SASP-секретируемые элементы, в свою очередь, влияют на микроокружение близлежащих тканей, тем самым вызывая фенотипические изменения в соседних клетках, изначально не относящихся к сенесцентным, т. е. SASP-секретируемые элементы опосредуют своё патофизиологическое воздействие на неповреждённые ткани, инициируя их переход в состояние сенесценса. Этот феномен носит название *паракринный сенесценс* [29].

Впервые возможность приобретения стареющими клетками секреторного фенотипа (SASP) была продемонстрирована в 2008 году *Corpe JP с соавт.* [30]. Авторы этой работы показали, что стареющие фибробласты «превращаются в секретирующие провоспалительные клетки, обладающие способностью стимулировать прогрессирование опухоли». Компоненты SASP, например IL-6 и IL-12, MIP и интерферон гамма (IFN- γ), секретируются фибробластами как в состоянии RS, так и в состоянии SIPS, что позволяет говорить о том, что SASP может индуцироваться клетками как в состоянии RS, так и в состоянии SIPS [28, 30].

Важной особенностью сенесцентных клеток является их устойчивость к апоптозу [31]. Ряд исследователей полагает, что резистентность сенесцентных клеток в отношении апоптоза связана с активацией в них сигнальных каскадов, сопряжённых с белками p53 [32]. Не менее важно и то, что сенесцентные клетки поддерживают свою жизнедеятельность за счёт стимуляции воспалительной реакции в окружающей их среде, чем отличаются от апоптотических, которые фагоциты элиминируют, не вызывая воспаления [23]. Показано, что стареющие клетки сверхэкспрессируют антиапоптотические белки семейства BCL-2, которые и придают им устойчивость к апоптозу [33]. Почему стареющие клетки устойчивы к апоптозу, остаётся неясным, особенно учитывая тот факт, что активация белка-супрессора p53 является ключевым этапом для обоих процессов [34].

Одна из гипотез, объясняющих, почему с возрастом в организме накапливаются сенесцентные клетки, заключается в том, что в этих клетках белок p53 активируется лишь частично, но в достаточной степени для стимуляции транскрипции генов, связанных со старением, например гена, кодирующего белок-супрессор p21^{CIP1/WAF1}, но не в той степени, которая необходима для активации апоптоза [35]. Полагают, что содержание и активность белка p53 в сенесцентных клетках снижаются за счёт его секвестрации в очаге повреждения ДНК [36].

Как было отмечено выше, сенесцентные клетки теряют способность к делению. Этот процесс регулируется двумя основными белками-супрессорами: p53 (также известным как опухолевый белок P53, клеточный опухолевый антиген p53 — UniProt или связанный с трансформацией белок 53 — TRP53) и p16 (также известный как p16^{INK4a} или ингибитор циклинзависимой киназы 2A, CDKN2A) [34]. Активация сигнальных путей, сопряжённых с этими белками, подавляет циклинзависимые киназы CDK1, CDK2, CDK4 и CDK6, тем самым предотвращая фосфорилирование белка ретинобластомы (RB), которое необходимо для активации последним факторов транскрипции E2F, инициирующих экспрессию генов, связанных с фазовым переходом первой фазы клеточного цикла — G₁ в фазу клеточного цикла — S, в которой реплицируется ДНК, необходимая для формирования второй фазы клеточного цикла — G₂ [34, 37]. Старение и эпигенетическая дерепрессия локуса CDKN2A также приводит к транскрипции и активации ингибитора клеточного цикла — опухолевого супрессора ARF (также известного как аномальный щелочной белок ARF или атипичный белок p14ARF) [37].

В инициации сенесенса также участвуют другие внутриклеточные сигнальные пути. Например, длительная активация сигнального пути, сопряжённого с инсулиноподобным фактором роста 1 (IGF1) индуцирует клеточное старение p53-зависимым образом [38]. Помимо этого, стимуляция таких сенесенс-связанных белков, как p15, p21^{CIP1/WAF1} и p27, может быть обусловлена активацией митоген-активируемых протеинкиназ (MAPKs), сигнального пути, сопряжённого с протеинкиназой B (PKB или AKT), активацией системы трансформирующего фактора роста-β (TGFβ), а также активными формами кислорода [39]. В частности, активация сигнального пути MAPK/ERK (RAS—RAF—MEK—ERK), а также белка SMAD — основного передатчика сигналов для рецепторов TGF-β — стимулирует белок-супрессор, ингибирующий апоптоз p21 (также известный как WAF1, CIP1 или SD11) [40]. Кроме того, идентифицирована группа сенесенс-ассоциированных микроРНК (senescence-associated miRNAs; SA-miRNAs), к которым относят miR-17-3p, microRNA-34a miR-141/miR146b-5p [41–43].

Несмотря на то, что в основе RS и SIPS лежат разные механизмы, в обоих случаях вероятным триггером клеточного ответа является ДНК-связывающий белок p53, который активирует белок p21^{CIP1/WAF1} — ингибитор циклинзависимой протеинкиназы (CDK), подавление активности которой вызывает остановку клеточного цикла [23]. В дальнейшем происходит активация экспрессии белка p16^{INK4a} (ингибитор циклинзависимых киназ) и аномального щелочного белка ARF, что провоцирует синтез и накопление в клетке основного маркера сенесенса — сенесенс-ассоциированной β-галактозидазы (SA-β-Gal). Полагают, что

накопление SA-β-Gal в сенесцентных клетках связано с увеличением в них массы лизосомальных ферментов [44], при этом увеличение активности SA-β-GAL в сенесцентных клетках является результатом, а не причиной старения, поскольку её активация/накопление не подавляет клеточный цикл [45].

Сенесенс и сердце / Senescence and heart

Кардиомиоциты составляют 25–35 % клеток сердца взрослого человека [46], вместе с тем, они занимают 65–70 % объёма миокарда [47]. Исторически полагали, что кардиомиоциты завершают клеточный цикл на ранней постнатальной фазе и являются терминально дифференцированными и постмитотическими (PoMiCS). Поскольку у взрослых людей кардиомиоциты являются терминально дифференцированными, постмитотическими клетками (с годовой способностью к обновлению менее 1 % [48]), старение кардиомиоцитов сложно точно определить по сравнению с пролиферирующими клетками, однако в последнее время появились данные, свидетельствующие о том, что они в той или иной мере сохраняют пролиферативную способность. В процессе старения кардиомиоциты, в том числе и человека, приобретают сенесенс-подобный фенотип, характеризующийся стойким повреждением ДНК в участках теломер, которое может быть вызвано митохондриальной дисфункцией и, что особенно важно, может происходить независимо от деления клеток и длины теломер в кардиомиоцитах [49]. Независимое от длины повреждение теломер активирует классические сигнальные пути, индуцирующие сенесенс (p16^{INK4a} и p21^{CIP1/WAF1}), что приводит к формированию ассоциированного с сенесенсом неканонического секреторного фенотипа (SASP) и, как следствие этого, активации профиброзных и прогипертрофических внутриклеточных сигнальных каскадов [49].

Показано, что у мышей размер кардиомиоцитов, продукция ROS и экспрессия белков p16^{INK4a} и/или p53 увеличиваются с хронологическим возрастом вместе с истощением теломер [50], что, как полагают, является признаком сенесенса, а также характерно для стареющих пролиферирующих клеток [14].

Механизмы, которые лежат в основе старения PoMiCS, в частности и кардиомиоцитов, а также и вклад PoMiCS в дегенерацию тканей во время старения являются новой областью интересов, с каждым годом привлекающей к себе всё больше и больше исследователей [13, 14, 51].

Полагают, что постмитотическое старение кардиомиоцитов в той или иной мере связано с митохондриальной дисфункцией, развивающейся в результате ингибирования митофагии (митофагия — селективное разрушение митохондрий путём аутофагии), которое достигается посредством блокады белком-супрессором p53 фермента убиквитинлигазы E3 parkin, являющейся важнейшим регулятором митофагии [52].

Помимо этого, увеличивающиеся с возрастом мутации митохондриальной ДНК стимулируют избыточную продукцию ROS, что, как было отмечено выше, способствует развитию стресс-обусловленного сенесенса. Предотвращение окислительного повреждения посредством активации фактора транскрипции FOXO3, приводящей к усилению экспрессии каталазы и супероксиддисмутазы, предотвращает старение кардиомиоцитов [53].

Однако следует учитывать тот факт, что несмотря на наличие четкой взаимосвязи между митохондриальной дисфункцией и клеточным старением, неясно, является ли сенесенс причиной или следствием митохондриальной дисфункции [54, 55]. Например, накопление поврежденных митохондрий вследствие нарушения митофагии служит важным фактором старения, и, наоборот, сенесенс напрямую нарушает регуляцию митофагии [56].

Эпигенетические факторы также могут негативно влиять на старение кардиомиоцитов. Например, потеря триметилированного гистона 3 лизина 9 (H3K9me3) взрослыми кардиомиоцитами способствует сверхэкспрессии гистондеметидазы (KDM4D), что приводит к усилению пролиферации и экспрессии генов клеточного цикла и тем самым препятствует его завершению [57].

В литературе имеются данные о том, что кардиомиоцитам в состоянии сенесенса свойственен SASP фенотип, за счёт которого они оказывают обширное негативное паракринное воздействие на окружающие популяции клеток сердца. В частности, они секретируют воспалительные цитокины IL-1 и IL-6, фактор некроза опухоли α (TNF- α), эндотелин 3 (Edn3), фактор роста и дифференцировки 15 (GDF15) и трансформирующий фактор роста бета TGF- β [58, 49]. IL-1, IL-6 и TNF- α индуцируют локальное воспаление в окружающих клетках [58], Edn3, GDF15 и TGF- β активируют миофибробласты и фибробласты и тем самым индуцируют миокардиальный фиброз [49].

Полагают, что у кардиомиоцитов в состоянии сенесенса нарушена сократительная способность и снижена их электрическая стабильность [59].

Имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о важной роли сенесенса в патогенезе инфаркта миокарда (ИМ) [58, 60, 61]. Так, например, на модели острого ИМ показано, что накопление маркера сенесенса (сенесенс-ассоциированной β -галактозидазы — SA- β -Gal) в перинфарктной зоне ассоциировалось с «гиперразрушением» митохондрий, обусловленным повышением активности в этой зоне связанного с динамином белка 1 (Drp1) — ключевого медиатора деления митохондрий [62]. Известно, что Drp1 совместно с актин-связывающим белком А (филамин-А, FLN-А) локализуется вокруг митохондрий, а повышенная активность Drp1, которая наблюдается в условиях гипоксии/ишемии, активирует филамин-А, что усиливает агрегацию актина и тем

самым инициирует «гиперразрушение» митохондрий. Показано, что фармакологическое ингибирование взаимодействия Drp1/филамин А подавляет деструкцию митохондрий, связанную с сенесенсом кардиомиоцитов, спровоцированным ИМ [62].

Одним из ключевых компонентов реперфузионного повреждения сердца является повышенная генерация активных форм кислорода, приводящая к прогрессированию тканевой дисфункции и усилению воспаления миокарда [63], а также инициирующая значительное образование сенесцентных кардиомиоцитов и кардиофибробластов [64]. Показано, что ишемия/реперфузия индуцирует теломерные очаги повреждения ДНК в кардиомиоцитах, что может сопровождаться повышением экспрессии/активации просенесцентных белков, в частности, ассоциированных со старением белков-супрессоров p16^{INK4a} и p21^{CIP1/WAF1} [49].

В экспериментах на нокаутных по ингибитору циклинзависимой киназы 2A (CDKN2A) — гену, кодирующему белок p16^{INK4a}, мышах было показано, что перинфарктная зона миокарда нокаутных мышей (CM-p16^{KO}) содержала значительно меньше кардиомиоцитов, экспрессирующих p16^{INK4a} по сравнению с контролем. Также у CM-p16^{KO} в перинфарктной области была снижена и экспрессия белка p21^{CIP1/WAF1}. С помощью магнитно-резонансной томографии было показано, что у CM-p16^{KO} выше сократительная функция и ударный объём левого желудочка сердца, размер некроза значимо меньше [65]. Авторы этого исследования делают обоснованное заключение о том, что «кардиомиоциты в состоянии сенесенса вносят основной вклад в ремоделирование и дисфункцию сердечной мышцы после инфаркта миокарда».

Модельные эксперименты на животных, воспроизводящие патологию миокарда, и исследования на эксплантированных сердцах человека показали накопление фибробластов в состоянии сенесенса в фиброзных областях сердца [60, 66, 67]. Однако механизмы, ответственные за активацию путей старения в этих клетках, и их функциональные последствия остаются недостаточно изученными. Полагают, что сенесенс-обусловленный фиброз миокарда связан с активацией профибротических сигнальных путей, регулируемых TGF β и/или цитозольным белком криопирином (NLRP3) [68–70].

Также имеются данные о том, что в сенесенс-обусловленное старение фибробластов вовлечены такие микроРНК, как miR-15, miR-17, miR-22 и miR-1468-3p [71–73]. Продemonстрировано, что эти микроРНК обладают профибротической активностью и играют важную роль в патогенезе таких заболеваний, как хроническая сердечная недостаточность и фибрилляция предсердий [74, 75].

Хорошо известно, что возраст является независимым предиктором смертности пациентов с острым инфарктом миокарда как в стационаре, так и через 1 год

после выписки [76]. Одним из объяснений этого является то, что избыточное инфаркт-обусловленное накопление сенесцентных клеток у пожилых пациентов усугубляет течение постинфарктного периода, препятствуя эффективной регенерации сердечной мышцы.

Также известно, что окислительный стресс, сопутствующий острым коронарным событиям, играет ключевую роль в преждевременном старении сердечно-сосудистой системы, которое, в частности, связано с прогрессирующим выделением эндотелиальными клетками коронарных сосудов прокоагулянтных микрочастиц/микровезикул (MPs/MVs), которые являются просенесцентными и провоспалительными эндотелиальными эффекторами [77, 78]. MPs/MVs представляют собой субмикронные везикулы плазматической мембраны, выделяемые клетками в ответ на стресс. MPs/MVs переносят активные, в том числе тромбогенные, цитоплазматические белки, липиды, а также прострессорные микроРНК. Было показано, что MPs/MVs эндотелиального происхождения, полученные от пациентов с острым коронарным синдромом, в экспериментах *in vivo* инициирует сенесценс и последующую дисфункцию коронарных эндотелиальных клеток [79]. Сенесцентные эндотелиальные клетки, обладая сенесценс-ассоциированным секреторным фенотипом, интенсивно экспрессируют такие супрессоры и ингибиторы клеточного цикла, как белки p16^{Ink4a}, p21^{CIP1/WAF1} и p53, которые, действуя паракринно, снижают способность неповреждённых эндотелиальных клеток продуцировать оксид азота (NO) и подавлять их способность ингибировать агрегацию тромбоцитов, т. е. создают условия для инициации острых коронарных событий [79]. Клинически сенесценс этой популяции клеток коррелирует с риском рестеноза коронарных стентов после чрескожного коронарного вмешательства [80].

Фибрилляция предсердий (ФП), или мерцательная аритмия, одно из самых частых злокачественных нарушений сердечного ритма, является осложнением большого числа сердечно-сосудистых заболеваний (врождённые и приобретённые пороки сердца, инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность, артериальная гипертензия, синдром «Праздничного сердца» и хронический алкоголизм, кардиомиопатии и многие другие).

Несмотря на существенные достижения в лечении ФП, она остаётся одной из основных причин тромбоэмболических событий, например риск развития острого нарушения мозгового кровообращения на фоне ФП у лиц пожилого возраста составляет $\approx 25\%$. Согласно анализу результатов 3-группового рандомизированного двойного слепого многонационального исследования «ENGAGE AF-TIMI 48 Trial», внезапная смерть является наиболее частой причиной сердечно-сосудистой смерти пациентов с ФП [81]. По мнению экспертов Американской ассоциации

сердца, увеличение возраста населения в сочетании с рядом состояний, предрасполагающих к ФП, на текущий момент «приводит к эпидемиологическому взрыву ФП» [82].

Учитывая, что распространённость ФП прямо пропорциональна возрасту и что укорочение теломер лежит в основе репликативного сенесценса, причинно-следственная связь между ними представляется логичной.

В исследовании *Xie J с соавт.* показано, что существует прямая взаимосвязь между сенесценсом, фиброзом предсердий и ФП [83]. Также показано наличие положительной связи между укорочением теломер и патогномоничным для ФП увеличением параметров, характеризующих наполнение левого желудочка сердца [84].

В работе *Carlquist JF с соавт.* показано, что у пациентов с ФП теломеры короче, чем у лиц с нормальным синусовым ритмом. Также было показано, что среднее соотношение теломер к отдельному гену (t/s) у пациентов с пароксизмальной формой ФП было значительно ниже, чем у пациентов с персистирующей или постоянной формой ФП, что подразумевает, что укороченные теломеры участвуют в возникновении ФП, но не в прогрессировании заболевания [85]. Авторы этого исследования приходят к выводу, что «настоящее исследование подтверждает связь между ФП и длиной теломер. Короткая длина теломер может быть ранее нераспознанным фактором риска развития ФП, который может быть использован в диагностике и терапии».

Вместе с тем, следует учитывать и тот факт, что в литературе имеются сообщения о том, что наличие ФП приводит к укорочению теломер, а не наоборот, а эффективная терапия ФП может замедлить истирание теломер [86].

Выше уже было отмечено, что ФП остаётся одной из основных причин тромбоэмболических событий, что позволяет рассматривать эту патологию как генерализованное протромботическое состояние, характеризующееся высокими уровнями циркулирующих в плазме крови продуктов распада эндогенных фибринолитиков, повышенной экспрессией ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) и повышенным выбросом в кровоток комплекса тромбин-анти тромбин и микрочастиц прокоагулянта (MPs) [87]. MPs, экспрессируемые эндотелиальными клетками сосудов, способствуют сенесценсу за счёт активации продукции митохондриями NOX и ROS [88]. Кроме того, циркулирующие MPs, оказывая прямое воздействие на сосуды и клетки крови, инициируют выработку тромбина [89]. Показано, что тромбин в концентрациях, достаточных для образования тромба, вызывает окислительный стресс и преждевременный сенесценс эндотелия предсердий [90]. Сенесценс предсердий, индуцируемый тромбином, характеризуется приобретением протромботического, проадгезивного,

профибротического и проремоделирующего фенотипа, в том числе повышенным уровнем экспрессии молекул адгезии сосудистых клеток (VCAM)-1, тканевого фактора, трансформирующего фактора роста (TGF)- β и MMP-2 и 9, что прямо свидетельствует о формировании SASP фенотипа [90].

Таким образом, помимо своей роли в свёртывании крови, тромбин также выступает в качестве ключевой просенесцентной молекулы, необходимой для выработки аритмогенного субстрата, создающего и/или поддерживающего ФП.

Также показано, что индуцированный тромбином сенесенс стимулирует в эндотелиальных клетках предсердий патологическую, в том числе и проаритмическую, активность локальной (тканевой) ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, тогда как блокада рецептора ангиотензина II типа 1 (AT1R) и ингибирование АПФ значительно ослабляют тромбин-зависимую индукцию ROS и замедляют формирование сенесенса [90].

Рецептор, активируемый протеиназой 1 (PAR-1), также известен как рецептор фактора свёртывания II (тромбина). Как следует из названия рецептора, тромбин является агонистом рецептора, активация которого вызывает изменение экспрессии множества генов, которые связаны с провоспалительным фенотипом [91]. У мышей избыточная экспрессия PAR-1 вызывает эксцентрическую гипертрофию и дилатационную кардиомиопатию, тогда как ингибирование PAR-1 в значительной степени препятствует развитию постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца [92]. Также показано, что тромбин инициирует гипертрофию и фиброз миокарда предсердий за счёт активации сопряжённых с PAR-1 сигнальных путей [93]. На модели хронической сердечной недостаточности у крыс, сопровождающейся дилатацией левого предсердия, показано, что на фоне терапии ингибитором тромбина или антагонистом PAR-1 уменьшается ремоделирование предсердий и продолжительность эпизодов ФП [93].

Другой возможной связью между сенесенсом и ФП, по-видимому, является митохондриальная дисфункция. Известно, что нарушение регуляции механизмов митохондриального гомеостаза является отличительной чертой сенесенса [94]. Также хорошо известно, что снижение активности митохондриальной цепи переноса электронов вызывает окислительный стресс и способствует развитию ФП [95]. Показано, что у пожилых людей митохондриальная дисфункция, инициирующая энергетическую недостаточность кардиомиоцитов и последующее развитие окислительного стресса, может быть провоцирующим фактором, ответственным за формирование ФП [96], возможно, вследствие ROS-обусловленного формирования в кардиомиоцитах предсердий SASP фенотипа.

Косвенным подтверждением вовлечённости сенесенса в формирование ФП может быть наличие у

сердечного гликозида дигоксина, широко применяемого для лечения ФП, выраженной сенолитической активности [97].

Трансмембранный белок 43 (TMEM43) играет важную роль в поддержании структуры ядерной оболочки путём организации белковых комплексов на внутренней ядерной мембране. Известно, что мутации в высококонсервативном трансмембранном домене TMEM43 вызывают аритмогенную кардиомиопатию (АКМ) [98]. Показано, что гетерозиготная делеция гена TMEM43 в кардиомиоцитах у мышей приводит к активации сигнальных путей, сопряжённых с белком-супрессором p53 экспрессии SASPs, что инициирует развитие ассоциированной со старением кардиомиопатии, характеризующейся дилатацией сердца, систолической дисфункцией и фиброзом миокарда [99].

Недавно у людей была зарегистрирована новая гомозиготная миссенс-мутация в домене LEM2 (LEMD2) белка ядерной оболочки TMEM43, вызывающая аритмогенную кардиомиопатию, протекающую с незначительным нарушением систолической функции левого желудочка сердца, но тяжёлыми желудочковыми аритмиями, приводящими к внезапной сердечной смерти [100]. В кардиомиоцитах и кардиофибробластах этих пациентов обнаружены удлинённые ядра аномальной формы, а также дезорганизованный, конденсированный гетерохроматин. Мутантные фибробласты имели сенесцентный фенотип и демонстрировали сниженную пролиферативную способность, что предполагает участие мутантного LEMD2 в процессах ремоделирования хроматина и инициации сенесенса [100].

Преждевременное старение кардиомиоцитов могут вызвать и кардиотоксичные препараты, например доксорубицин, о чём свидетельствует увеличение на фоне его приёма экспрессии маркера сенесенса SA- β -Gal и сенесенс-связанных белков-супрессоров (p16^{Ink4a}, p21^{Cip1/Waf1} и p53), а также снижение фосфорилирования сердечного тропонина I и подавление активности теломеразы по мере старения кардиомиоцитов. Изменения в экспрессии мРНК, обычно наблюдаемые в старых клетках, наблюдались и в кардиомиоцитах новорождённых крысят, получавших доксорубицин [101]. Предварительная обработка кардиомиоцитов новорождённых крысят специфическими ингибиторами MAPKs и p53 либо ослабляло повреждение, вызванное доксорубицином, либо смещало клеточный ответ на стресс со старения на апоптоз [102].

В последнее время опубликован ряд систематических обзоров литературы, авторы которых высказывают обоснованное мнение о том, что «модуляция сенесенса кардиомиоцитов является жизнеспособной стратегией терапевтического лечения» [49] и рассматривают возможные подходы к фармакологической коррекции этой патологии [14, 51, 103, 104].

Сенотерапия: направления развития и терапевтические возможности / Senotherapy: Directions of development and therapeutic possibilities

Сегодня в качестве новой терапевтической стратегии для лечения патологий, связанных со старением, проводятся исследования по поиску и изучению механизмов действия сенотерапевтических лекарственных средств. Сенотерапевтические препараты представляют собой новый класс лекарственных средств, действие которых направлено или на устранение (уничтожение) сенесцентных клеток (сенолитики), или не на уничтожение сенесцентных клеток, а модификацию их секреторного фенотипа (сеностатики или сеноморфные препараты; ингибиторы SASP) [51, 105].

Сенолитики (senolytics)

Согласно имеющимся к настоящему времени экспериментальным данным, сенолитическая терапия оказывает определённое кардио- и ангиопротективное действие:

- улучшает инотропную функцию сердца (повышает фракции укорочения и выброса левого желудочка сердца) и повышает физическую работоспособность мышей [106];
- повышает реактивность сосудов у сенесцентных мышей [109];
- у сенесцентных мышей с гиперхолестеринемией снижает кальцификацию сосудов [109];
- у сенесцентных мышей с дефицитом рецепторов липопротеинов низкой плотности (Ldlr-/-) уменьшает в атеросклеротических сосудистых бляшках количество стареющих пенных клеток [110]. Авторы этого исследования полагают, что «селективное удаление этих клеток сенолитическими агентами является перспективным направлением для лечения атеросклероза».

Как уже было отмечено выше, одним из наиболее перспективных направлений в создании сенолитиков является поиск препаратов, способных активировать проапоптотические каскады в сенесцентных клетках. Впервые о такой возможности сообщили в 2011 году Даррен Дж. Бейкер с соавт., которые в экспериментах на трансгенных мышцах (INK-АТТАС), у которых «ген самоубийства» (Cdkn2a) был встроен в локус Ink4a, показали, что его активация путём введения соединения AP20187 способна инициировать апоптоз посредством удаления сенесценс-связанного белка p16^{Ink4a} в позитивно стареющих клетках [111]. По результатам этого исследования было сделано заключение, что удаление сенесцентных клеток путём активации апоптоза «может предотвратить или отсрочить тканевую дисфункцию и продлить период здоровья».

В результате протеомных и транскриптомных исследований в сенесцентных клетках был выявлен ряд ключевых антиапоптотических молекул и сигнальных каскадов — SCAPs (senescent cell anti-apoptotic pathways), которые в настоящее время рассматривают

как биомаркеры для создания сенолитиков. К SCAPs относятся тирозинкиназа/эфрин B1/3 (EFNB1/3); белки Bcl1/Bcl2/Bcl-X; фосфатидилинозитол-3-киназа/протеинкиназа B (PI3K/Akt) сигнальный каскад; сигнальные каскады, сопряженные с белками-супрессорами p53/p21/PAI и II, а также SCAPs, связанные с транскрипционным фактором 1α, индуцируемым гипоксией (HIF-1α) [106–108].

Навитоклакс (navitoclax, АТВ-263) — низкомолекулярный миметик домена BH3 проапоптотического белка BAD, обладающий свойствами ингибитора белков семейства Bcl-2, является мощным индуктором апоптоза [112].

В экспериментах *in vitro* Zhu Y с соавт. в сравнительном аспекте оценили сенолитическую активность известных активаторов апоптоза раковых клеток, таких как навитоклакс и TW-37 [12]. TW-37 представляет собой миметическое производное госсипола второго поколения, гомологичное антиапоптотическому фактору Bcl-2. Авторы показали, что навитоклакс проявляет сенолитическое действие в стареющих эпителиальных клетках пупочной вены человека (HUVEC), фетальных клетках лёгкого человека (IMR90) и первичных эмбриональных фибробластах мыши (MEFs), тогда как TW-37 в этих клетках значительно менее эффективен. Полагают, что расхождение в интенсивности сенолитического действия этих соединений связано с определёнными различиями в точках приложения их действия: хотя и навитоклакс, и TW-37 нацелены на белки Bcl-2 и Bcl-xl, навитоклакс взаимодействует с антиапоптотическим белком Bcl-w, а TW-37 — с белком дифференцировки клеток миелоидного лейкоза (ингибитором апоптоза) Mcl-1.

В модельных экспериментах, воспроизводящих инфаркт миокарда у «пожилых» мышей, показано, что индуктор апоптоза навитоклакс устраняет стареющие кардиомиоциты и ослабляет экспрессию профибротического белка, что уменьшает интенсивность пост-инфарктного ремоделирования миокарда и улучшает диастолическую функцию левого желудочка сердца, а также повышает выживаемость животных [61]. Авторы этого исследования полагают, что «их данные подтверждают концепцию, что стареющие клетки вносят основной вклад в нарушение функции и увеличение смертности после ИМ», и что «сенолитики являются потенциальным новым направлением терапии ИМ».

Это предположение нашло своё подтверждение в исследованиях Dookun E с соавт. которые в модельных экспериментах, воспроизводящих ишемию/реперфузионное повреждение сердца, показали, что навитоклакс, введённый после реперфузии, инициировал удаление сенесцентных клеток, что, в свою очередь, способствовало подавлению сенесценс-обусловленной экспрессии провоспалительных, профибротических и антиангиогенных цитокинов, включая индуцируемый интерфероном гамма-белок-10, TGF-β3, ин-

терлейкин-11, интерлейкин-16 и фракталкин и, как следствие этого, способствовало улучшению насосной функции левого желудочка, увеличению васкуляризации миокарда и уменьшению размера инфаркта [64]. Авторы исследования приходят к заключению, что их данные «подтверждают концепцию о том, что сенесенс способствует нарушению функции сердца и неблагоприятному ремоделированию после ишемии-реперфузии сердца».

Несколько позже эти результаты были подтверждены в экспериментах, в которых навитоклакс, содержащийся в наночастицах (ABT263-PLGA), вводили внутримиекардиально за 5 мин до начала реперфузии [113]. Было показано, что ABT263-PLGA успешно удаляет индуцированные стрессом сенесцентные кардиомиоциты, ослабляет воспалительную реакцию и восстанавливает сердечную функцию, тогда как в контрольной группе она динамически снижалась. ABT263-PLGA не только значимо снижал экспрессию провоспалительных цитокинов и протеаз, разрушающих сердечный матрикс, но также индуцировал переход макрофагов из фазы воспаления в фазу репарации посредством эффероцитоза макрофагами апоптотических сенесцентных кардиомиоцитов и кардиофибробластов.

Имеющиеся к настоящему времени данные позволяют говорить о том, что удаление сенесцентных клеток с помощью навитоклакса задерживает начало и развитие сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, инфаркт миокарда, ишемия-реперфузионное повреждение, а также старение сердца [61, 64].

Однако стоит отметить, что навитоклакс может вызывать тромбоцитопению и нейтропению даже после кратковременного воздействия [12, 114], что, по всей видимости, потенциально ограничивает возможности его клинического применения.

Кверцетин/дазатиниб. В литературе имеется достаточно большое количество сообщений, свидетельствующих о том, что природный флавоноид кверцетин обладает сенолитической активностью [115–117]. Показано, что способность кверцетина индуцировать апоптоз и аутофагию связана с его ингибирующим влиянием на PI3K/AKT/mTOR и STAT3 внутриклеточные сигнальные пути [118].

Дазатиниб [BMS 354825] представляет собой низкомолекулярный ингибитор, который воздействует на широкий спектр тирозинкиназ, участвующих в патофизиологии нескольких неоплазий. Среди наиболее чувствительных к дазатинибу мишеней выделяют Bcr-ABL тирозинкиназы, киназы семейства SRC (SRC, LCK, HCK, FYN, YES, FGR, BLK, LYN и FRK) и рецепторные тирозинкиназы c-KIT, рецепторы фактора роста тромбоцитов (PDGFR) α и β , рецептор дискоидинового домена 1 (DDR1), c-FMS и эфринные рецепторы B1/3 [119].

В экспериментах *in vitro* показано, что дазатиниб снижал жизнеспособность и/или вызывал гибель се-

несцентных преадипоцитов человека и способствовал увеличению (в 2–5 раз) количества пролиферирующих преадипоцитов [106].

На различных моделях патологических состояний показано, что комбинация кверцетина и дазатиниба более эффективна в плане элиминации сенесцентных клеток, нежели монотерапия. Так, например, в экспериментах *in vivo* продемонстрировано, что эта комбинация избирательно удаляет сенесцентные клетки и улучшает сердечную и сосудистую функцию у «пожилых» мышей и увеличивает продолжительность их жизни [106].

Систематическая терапия комбинацией кверцетина и дазатиниба вызывала в медиальном слое аорты значительное снижение экспрессии маркеров сенесенса и улучшала её вазомоторную функцию у мышей с гиперхолестеринемией, что связывают с терапией-обусловленным увеличением биодоступности NO и повышением чувствительности гладкомышечных клеток аорты к донорам NO [109].

К настоящему времени накоплены достаточно убедительные данные о том, что сердце млекопитающих, включая человека, содержит самообновляющиеся, клоногенные, мультипотентные стволовые клетки сердца и клетки-предшественники (CPC), обладающие *in vivo* регенеративным потенциалом [120, 121]. Показано, что комбинированное применение кверцетина и дазатиниба в течение 2 месяцев устраняло сенесенс-обусловленную сердечную дисфункцию посредством глобальной элиминации сенесцентных кардиомиоцитов у «старых» мышей с последующей активацией резидентных CPC и увеличением количества мелких Ki67-, EdU- позитивных кардиомиоцитов [121]. Ki67-, EdU-позитивные кардиомиоциты — это популяция резидентных стволовых и прогениторных клеток сердца, обладающих самовоспроизведением, колоногенностью и мультипотентностью, способных дифференцироваться в основные типы клеток сердечной линии [122].

Пиперлонгумин. Сенолитической активностью обладает и выделенный из длинного перца алкалоид пиперлонгумин [123]. Пиперлонгумин избирательно увеличивает выработку активных форм кислорода и апоптотическую гибель клеток за счёт активации индуцированной стрессом изоформы белка теплового шока HSP32 — гемооксигеназы-1 (HO-1), усиление экспрессии которой происходит посредством активации ядерного фактора-2, связанного с эритроидом-2 (NRF2) [124]. В экспериментах *in vivo* показано, что сверхэкспрессия HO-1, обладающей выраженным антиоксидантным действием, подавляла секреторную активность сенесцентных кардиомиоцитов в ишемизированном миокарде. Помимо этого, HO-1 улучшала инотропную функцию ишемизированного миокарда за счёт ингибирования индуцированного сенесцентными кардиомиоцитами отложения внеклеточного матрикса и торможения фиброгенеза [125]. Кроме того,

показано, что экспрессия HO-1 замедляла связанное с возрастом образование сенесцентных кардиомиоцитов как у здоровых мышей, так и в первичной культуре клеток кардиомиоцитов новорождённых мышей [125].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре эндотелиальных клеток человека (HUVECs), показано, что HO-1 является потенциальной мишенью для лечения сенесценса эндотелия: сверхэкспрессия HO-1 в сенесцентных клетках HUVEC стимулировала взаимодействие между эндотелиальной синтазой оксида азота (eNOS) и протенкиназой B (Akt), что приводило к усилению фосфорилирования eNOS по Ser1177 и последующему увеличению продукции оксида азота (NO). Более того, индукция HO-1 предотвращала снижение соотношения димер/мономер eNOS, стимулируемое H_2O_2 , благодаря её антиоксидантным свойствам. Напротив, подавление экспрессии HO-1 нарушало фосфорилирование eNOS и тем самым ускоряло её расщепление [126].

Гелданамицин и 17-AAG — ингибиторы белка HSP90. Белок теплового шока 90 (HSP90) действует как молекулярный шаперон для стабилизации неправильно свёрнутых или развёрнутых белков в условиях клеточного стресса. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* ингибиторы белка HSP90 проявляют сенолитическую активность [127]. Поскольку изоформы белка HSP90 экспрессируются в цитозоле (HSP90AA), эндоплазматическом ретикулуме (ERGrp94 или HSP90AB), митохондриях (TRAP1) и, возможно, в ядре клетки, они представляют собой отличные терапевтические мишени для воздействия на различные клеточные процессы, включая выживаемость/старение клеток [128].

Показано, что селективные ингибиторы белка HSP90 гелданамицин и 17-AAG оказывают дозозависимое сенолитическое действие на сенесцентные клетки независимо от их вида, поскольку реализуют сенесцентное действие в стареющих фибробластах эмбриона мыши (MEFs), мезенхимальных стволовых клетках (MSC), фибробластах лёгких человека (IMR90 и WI-38) и эндотелиальных клетках сосудов (HUVECs) [127]. Так, например, внесение ингибиторов HSP90 в культуру стареющих MEFs сопровождается почти полным исчезновением активной формы фосфорилированной протеинкиназы B (AKT), ключевого регулятора антиапоптотического пути PI3K/AKT, активирующегося в процессе сенесценса, всего через 6 ч от момента внесения; эффект длится не менее 24 ч.

Кроме того, ингибиторы HSP90 проявляют выраженную сенолитическую активность в отношении сенесцентных клеток, старение которых индуцировали различными способами: окислительным стрессом, генотоксическим стрессом и репликативным стрессом. В частности, в них была снижена экспрессия регулятора клеточного цикла — p16^{INK4a}, фактора SASP — IL-6 и маркера повреждения ДНК — γH2AX после внесения в клеточную культуру ингибиторов белка HSP90 — гелданамицина или 17-AAG [127].

В экспериментах *in vivo* показано, что повторные прерывистые курсы лечения ингибитором HSP90 17-DMAG сопровождались значительной отсрочкой появления возрастной симптоматики у прогероидных мышей, что привело к улучшению их общего состояния здоровья [127]. {*Прогероидные мыши представляют собой новый инструмент для исследования механизмов старения: у прогероидных, или Ercc1-/Δ гипоморфных мышей, снижен уровень экспрессии эндонуклеазного комплекса репарации ДНК ERCC1-XPF, в результате чего в клетке накапливаются спонтанно возникающие эндогенные просенесцентные повреждения ДНК, аналогичные для мышей естественного возраста, но с более высокой скоростью*}.

Дигоксин. Сенолитической активностью обладает и широко применяемый в клинике сердечный гликозид — алколоид наперстянки шерстистой дигоксин. Согласно имеющимся данным, сенолитическая активность дигоксина, в определённой мере, связана с его способностью инициировать апоптоз в сенесцентных клетках путём индукции проапоптотического белка NOXA семейства Bcl2 [129].

Хорошо известно, что в основе кардиотропного действия дигоксина лежит его способность подавлять активность фермента Na^+/K^+ -АТФазы Р-типа, встроенного в клеточную мембрану кардиомиоцитов, за счёт взаимодействия с его α субъединицей, что влечёт за собой увеличение внутриклеточной концентрации ионов Na^+ и снижение концентрации ионов K^+ и, как следствие этого, усиление деполяризации клеточной мембраны. *Triana-Martínez F* высказывает предположение о том, что поскольку клеточная мембрана сенесцентной клетки в условиях покоя и так более деполяризована, чем у интактной клетки, усиление её деполяризации под влиянием дигоксина может лежать в основе его сенолитической активности [97].

Также нельзя исключить, что сенолитическое действие дигоксина связано с тем, что сенесцентные клетки имеют более высокую концентрацию ионов H^+ , т. е. более закислены, а повышение в них уровня ионов Na^+ может привести к блокаде Na^+/H^+ -обменника (натрий-водородный антипортер) и дальнейшему увеличению цитозольной концентрации ионов H^+ , что усилит закисление сенесцентной клетки и инициирует её гибель [130].

Говоря о возможности использования дигоксина в качестве сенолитического лекарственного средства, следует учитывать, что дигоксин, так же как и другие сердечные гликозиды, обладает очень узкой терапевтической широтой и высокой кардиотоксичностью, что делает применение препарата в качестве сенолитика достаточно проблематичным.

Ингибиторы БЕТ-бромодоменных белков. В последнее время появились сообщения о возможности использования эпигенетических регуляторов — ингибиторов БЕТ-бромодоменных белков в качестве сенолитиков [131]. Бромодомен был впервые описан

Haynes SR в 1992 году как эволюционно консервативный домен из ≈ 110 аминокислот, обнаруживаемый во многих связанных с хроматином белках [132]. В качестве мишени для сенолитиков выступает представитель подсемейства бромодоменных белков БЕТ хроматинсвязывающий белок BRD4 [131]. Ряд исследователей рассматривает BRD4 в качестве глобального регулятора транскрипции, в частности BRD4, являющийся атипичной протеинкиназой, способен самостоятельно фосфорилировать РНК-полимеразу II по Ser-2 [133] — транскрипционный фактор, который катализирует транскрипцию ДНК, регулирует синтез предшественников мРНК и большинство мРНК и микроРНК [134]. Полагают, что BRD4 необходим для репарации двухцепочечных разрывов ДНК (DSB) и опосредует образование перестроек генов путём вовлечения процесса негомологичного соединения концов — NHEJ [135].

В качестве ингибитора BRD4 выступает химера, нацеленная на протеолиз, гетеробифункциональный PROTAC — ARV-825, которая рекрутирует BRD4 в убиквитинлигазу E3 cereblon, что приводит к быстрой, эффективной и продолжительной его деградации [136].

В сенесцентных клетках блокада BRD4 с помощью ARV825 вызывает стойкий апоптоз, индуцированный аутофагией, за счёт, как минимум, двух независимых, но интегрированных путей: усиливает двухцепочечные разрывы ДНК (DSBs) путём блокирования репарации NHEJ и/или усиления экспрессии генов аутофагии [131].

В литературе также имеются данные о том, что определённым сенолитическим действием обладают антибиотики из группы макролидов — азитромицин и рокситромицин [137], низкомолекулярное производное цис-имидазолина — препарат нутлин-3а — белково-протеиновый ингибитор E3 убиквитин-протеинлигазы Mdm2 (MDM2), который гидрофобно взаимодействует с MDM2, занимая на ней сайт связывания с белком — супрессором p53 [138], а также природные соединения — флавоноид физетин [139] и полифенол куркумин [140].

Сеностатики (senostatics) или сеноморфики (senomorphics)

Подавление SASP без уничтожения сенесцентных клеток является альтернативным терапевтическим подходом для лечения заболеваний, связанных с клеточным старением.

Ингибиторы SASP (сеностатики) могут прямо или косвенно ослаблять SASP сенесцентных клеток путём ингибирования активности ядерного фактора транскрипции (NF)- κ B, серин/треониновой протеинкиназы I (mTOR1) и митохондриальных мишеней, связанных с дыхательными комплексами I или IV, а также блокады сигнального пути, сопряжённого с JAK-STAT или ряда других сигнальных путей, участвующих в индукции и поддержании SASP [141–143].

Основными мишенями сеностатических агентов являются сигнальные пути, напрямую определяющие интенсивность SASP и ответственные за инициацию/усиление хронической воспаленной реакции, а именно сигнальные пути, контролируемые NF- κ B, сопряжённый с ним mTOR1 сигнальный путь и регуляторный PI3k/Akt сигнальный каскад [144].

В основе активация NF- κ B и последующей его провоспалительной активности лежат сложные окислительно-восстановительные регуляторные взаимодействия, реализующиеся либо путём окисления цистеина в его ДНК-связывающей области, либо путём окисления ингибитора NF- κ B киназы (I κ B) [145]. Активация NF- κ B индуцирует транскрипцию генов медиаторов воспаления, таких как IL-6 и IL-8 [144].

mTOR1-обусловленная передача сигналов является основным промежуточным регулятором воспаления посредством контроля положительной обратной связи между NF- κ B и интерлейкином (IL)-1 α [146]. Помимо этого, mTOR1 способствует трансляции IL-1 α , который играет ключевую роль в поддержании SASP, влияя на ДНК-связывающую активность NF- κ B и белка, связывающего ССАТ-энхансер (C/EBP β), что инициирует транскрипцию IL-6 и IL-8 [144].

Имеются также данные о возможности контроля экспрессии SASP посредством усиленной трансляции MAPK-активируемой протеинкиназы 2 (MAPKAPK2 или MK2) [147]. В этом случае активация NF- κ B происходит посредством MK2-киназы, которая активируется при стрессе митоген-активируемой протеинкиназой p38 (p38MAPK) [148].

Активацию NF- κ B и повышение активности SASP может вызвать и фактор некроза опухоли (TNF)- α , который индуцирует фосфорилирование АК-киназы, в результате чего сигнальные молекулы и активатор фосфорилирования транскрипции 3 (STAT3) перемещаются в ядро клетки, где усиливают просенесцентную транскрипцию генов [149].

В норме ДНКазы, такие как дезоксирибонуклеаза II (DNase II) и экзонуклеаза репарации I (TREX), разрушают фрагменты цитоплазматической ДНК, исходящие из ядра или повреждённых митохондрий [150]. В сенесцентных клетках экспрессия этих ДНКаз подавлена, что приводит к накоплению в цитоплазме аномальных фрагментов цитоплазматической ДНК, инициирующих активизацию сигнальной оси ДНК-сенсоров — cGAS-STING, включающую в себя синтазу для вторичного мессенджера циклического GMP — AMP (cGAS) и циклический стимулятор рецепторов генов интерферона GMP-AMP (STING), что, в свою очередь, формирует SASP-фенотип [151].

Белок ламин B1 является одним из ключевых элементов ядерной мембраны, играющий решающую роль в функционировании и организации ядра. В процессе формирования сенесценса происходит снижение экспрессии ламина B1, расположенного на внутренней поверхности ядерной мембраны [152].

В результате дефицита белка ламин В1 происходит дестабилизация структуры ядра клетки, что приводит к формированию микроядер путём экструзии хроматина из ядра. Накопление ядерной ДНК в цитоплазме вызывает aberrантную активацию цитоплазматического ДНК-сенсора cGAS-STING, что провоцирует образование SASP-фенотипа посредством индукции интерферона- β [153].

Недавно было показано, что во время формирования сенесенса ретротранспозируемые элементы LINE-1 (тип генетического компонента, который копирует и вставляет себя в разные участки генома) накапливаются в клетке и запускают SASP путём инициации транскрипционной дерепрессии и последующей активации реакции клетки на интерферон I типа (IFN-I), которая является признаком позднего старения и способствует поддержанию секреторного фенотипа [154]. Увеличение количества цитоплазматической ДНК, продуцируемой ретротранспозонами LINE-1 в сенесцентных клетках, инициирует активацию оси cGAS-STING и, в частности сенесенс-связанного хронического воспаления — инфламмажа [154]. Показано, что молекулярно-таргетная терапия в течение двух недель мышей линии C57BL/6J (возраст 26 месяцев) нуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы ламивудином подавляла активность IFN-I и, как следствие этого, снижала интенсивности инфламмажа [150, 154].

В конце 2023 году *Victorelli S с соавт.* опубликовали результаты исследования, из которого следует, что SASP-фенотип сенесцентных клеток может формироваться и за счёт накопления в цитозоле клеток митохондриальной ДНК (mtДНК) [155]. Авторы показали, что формирование распространённой проницаемости внешней мембраны митохондрий (MOMP) является признаком/триггером сенесенса. Для этого процесса, называемого миноритарным MOMP (miMOMP), требуется формирование во внешней мембране митохондрий макропор BAX и BAK, обеспечивающих высвобождение митохондриальной ДНК в цитозоль. В свою очередь, цитозольная mtДНК активирует один из основных триггеров SASP-сигнальный путь cGAS-STING.

Ингибиторы NF- κ B. Фактор транскрипции NF- κ B, являющийся центральным компонентом клеточного ответа на повреждение, стресс и воспаление, состоит из 5 субъединиц, RelA или p65, c-Rel, RelB, p50 и p52. С ДНК NF- κ B связывается в виде димеров, наиболее распространённым из которых является гетеродимер p65p50 [156]. Гетеродимер p65p50 локализован преимущественно в цитоплазме и поддерживается в этом неактивном состоянии за счёт секвестрации белка I κ B [156]. Активация NF- κ B по каноническому пути опосредуется вышестоящей I κ B-киназой (IKK), гетеротримером, состоящим из 2 каталитических субъединиц, IKK α и IKK β , и регуляторной субъединицей, называемой IKK γ или важным модулятором NF- κ B (NEMO) [156]. В ответ на различные факторы, включая

провоспалительные цитокины, патогены, окислительный стресс и факторы роста, IKK активируется и фосфорилирует I κ B, приводя к его полиубиквитинированию и последующей протеасомной деградации [157]. Деградация I κ B позволяет NF- κ B переместиться в ядро, где он, связываясь с родственной последовательностью ДНК, а также с коактиваторами, такими как CBP/p300, регулирует экспрессию генов [158].

Метформин. В качестве одного из возможных ингибиторов NF- κ B рассматривают эугликемическое лекарственное средство производное диметилбигуанида метформин, традиционно используемый для лечения пациентов с сахарным диабетом II типа. Препарат также оказывает противовоспалительное и кардиопротекторное действие [159].

Подавление избыточного глюконеогенеза метформином связано с его способностью активизировать АМФ-активируемую протеинкиназу (АМФК), в результате чего увеличивается экспрессия ядерного рецептора внутриклеточных факторов транскрипции SHP (малый гетеродимерный партнер или NR0B2), который, в свою очередь, подавляет экспрессию фосфонолпируват карбоксикиназы и глюкозо-6-фосфатазы, участвующих в глюконеогенезе [160].

Moiseeva O с соавт. в экспериментах *in vitro* показали, что метформин, подавляя фосфорилирование I κ B и IKK α/β , препятствовал активации NF- κ B и тем самым предотвращал его транслокацию в ядро клетки. Этот эффект препарата не связан с его активирующим влиянием в отношении АМПК, поскольку в экспериментах, проведённых на макрофагах мышиной клеточной линии RAW264.7, не экспрессирующих АМПК, метформин также ингибировал активность NF- κ B [143]. Кроме того, эти авторы в экспериментах на стареющих клетках IMR90 показали, что метформин ингибировал продукцию ROS и подавлял экспрессию генов провоспалительных цитокинов, не влияя на экспрессию генов противоопухолевых цитокинов.

В литературе имеются данные о том, что сеностатическое действие метформина связано или напрямую с ингибированием комплекса RasGTP-связывающих (Rag) GTPases, необходимого для активации mTORC1 [161], или косвенно увеличивая экспрессию p53-зависимым образом негативного регулятора mTOR — чувствительного к стрессу белка REDD1 [162]. В обоих случаях ингибирование mTOR происходит независимо от АМПК.

Помимо этого, в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что метформин может индуцировать апоптоз [163, 164], т. е. помимо сеностатической проявлять и сенолитическую активность.

В экспериментах *in vivo* показано, что метформин значительно продлевает продолжительность жизни короткоживущих, склонных к опухолям самок мышей HER2/neu и самок мышей SHR [165, 166]. Также было показано, что скорость демографического старения трансгенных мышей HER-2/neu, оцененная соот-

ветствующими параметрами Гомперца, была снижена в 2,26 раза.

В литературе имеются единичные сообщения о том, что определённой сеностатической активностью обладает ингибитор NF-κB сесквитерпеновый лактон, содержащийся в растениях рода пиретрум — препарат партенолид [167].

Adler AS с соавт. сообщают о том, что «индуцируемая генетическая блокада NF-κB в течение 2 недель в эпидермисе хронологически состарившихся мышей вернула характеристики ткани и глобальные программы экспрессии генов к таковым у молодых мышей» [168].

Ингибиторы mTOR. О роли mTOR в инициации старения впервые сообщил в 2003 году *Vellai T с соавт.* [169]. Авторы этого исследования показали «что дефицит mTOR у нематоды *Caenorhabditis elegans* более чем удваивает её естественную продолжительность жизни».

Рапамицин. Рапамицин (Сиролимус) был открыт в 1972 году как вещество с противогрибковой активностью, выделяемое бактерией *Streptomyces hygroscopicus*, и рассматривался авторами как антифунгальный антибиотик [170]. Позднее у рапамицина была выявлена выраженная иммуносупрессивная активность, и его стали широко применять для предотвращения отторжения органов при трансплантации, особенно при трансплантации почек [171].

Интерес к рапамицину как сенолитику возник в 2009 году после публикации *Harrison DE с соавт.*, которые сообщили, что лечение рапамицином может значительно продлить продолжительность жизни мышей [172].

Сеностатическую активность рапамицина, который на сегодняшний день имеет самую аргументированную экспериментальную базу, позволяющую позиционировать его как потенциальное средство для профилактики/лечения сенесенса, связывают с его ингибирующим влиянием в отношении mTOR [173].

mTOR представляет собой серин/треониновую протеинкиназу, которая принадлежит к семейству киназ, связанных с фосфоинозитид-3-киназой (PI3K), и образует ядра двух больших белковых комплексов — mTORC1 и mTORC2 [174].

Известно, что mTORC1 фосфорилирует/регулирует активность таких субстратов, как S6-киназа 1 (S6K1), eIF4E-связывающий белок 1 (4E-BP1), транскрипционный фактор EB (TFEB), unc-51-подобная киназа 1 (Ulk1) и связанный с рецептором фактора роста белок 10 (GRB-10), а mTORC2 регулирует фосфорилирование Akt, сывороточной/глюкокортикоид-регулируемой киназы 1 (SGK1) и представителей семейства протеинкиназ C (PKC) [175].

Показано, что однократное применение или короткий курс лечения рапамицином инициирует ингибирование mTORC1 [176]. В отличие от mTORC1, изоформа mTORC2 не чувствительна к рапамицину.

Однако длительное лечение рапамицином косвенно подавляет активность mTORC2, необходимого для поддержания передачи сигналов Akt/PKB [177].

Систематическая терапия рапамицином оказывает комплексное воздействие на организм, значимо предотвращая формирование характерной для старения симптоматики:

- **Неврологические и когнитивные изменения.** Показано, что рапамицин препятствует зависящему от возраста снижению двигательной активности [178, 179]; в тесте «Rotarod» (вращающийся стержень) у пожилых животных способствует улучшению координации движений и равновесия [180]; улучшает обучение и память и оказывает сопутствующее анксиолитическое и антидепрессантное действие [181].

- **Структурные и функциональные изменения сердечно-сосудистой системы.** Показано, что рапамицин препятствует возраст-обусловленному увеличению массы миокарда и дилатации полостей сердца [180] и способствует поддержанию инотропной функции левого желудочка сердца [179], а также в определённой мере препятствует формированию характерных для «пожилого сердца» морфологических изменений — аномалии размера ядра и конформации хроматина [178]. В изолированных перфузированных сердцах, полученных от старых животных, рапамицин «обращает вспять связанное с возрастом снижение окисления жирных кислот, восстанавливая более молодое использование субстрата и энергетический профиль сердца» [182].

- **Изменения в опорно-двигательном аппарате.** Показано, что рапамицин значительной степени препятствовал формированию возрастных биомеханических изменений сухожилий [178].

- **Изменения в репродуктивной системе.** Показано, что на фоне терапии рапамицином наблюдалось значительное снижение распространённости патомониичной для «пожилых» животных гиперплазии эндометрия [178], вместе с тем у самцов, получавших препарат, наблюдалась значимая дегенерация яичек, превышающая таковую у контрольных животных [180].

Помимо рапамицина, способностью подавлять SASP путём ингибирования mTOR обладают и его структурные производные, так называемые «рапа-логи», к которым относятся препараты эверолимус, темсиолимус, ридафолимус, зотаролимус и 32-дезоксо-рапамицин [142, 183].

Рибосомальная протеинкиназа S6β-1. Рибосомальная протеинкиназа S6β-1 (S6K1) представляет собой серин/треонинкиназу, расположенную ниже по течению сигнального пути mTOR [184]. Предполагают, что специфическое ингибирование не mTORC1, а S6K1 может быть не менее эффективно, чем терапия рапамицином. В экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре клеток пупочной вены человека (HUVECs), показано, что ингибирование S6K1 предотвращает эндотелиальную дисфункцию, экспрессию молекул адгезии и старение на фоне длительного применения

L-аргинина [185]. В исследованиях, выполненных на нокаутных по S6K1 (S6K1^{-/-}) мышах, показано, что делеция S6K1 «привела к увеличению продолжительности жизни и устойчивости к возрастным патологиям, таким как костная, иммунная и двигательная дисфункции, а также потеря чувствительности к инсулину» [186].

Активаторы NAD⁽⁺⁾-зависимой гистондеацетилазы — сиртуин-1 (Sirt-1). NAD⁽⁺⁾-зависимая гистондеацетилаза III класса — сиртуин-1 (Sirt1) представляет собой многофункциональный белок, критически участвующий в стрессовых реакциях, клеточном метаболизме и предупреждении сенесенса посредством деацетилирования различных субстратов, в том числе белка-супрессора p53, аутоантигенного белка p70 (Ku70), а также факторов транскрипции forkhead-box (FOXO1), гамма-коактиватор 1-α рецептора, активируемый пролифератором пероксисом (PGC-1α), NF-κB и гистонов, а также инфламмасы NLRP3 — многобелкового олигомерного комплекса, отвечающего за активацию воспалительного ответа. Предполагается, что негистоновая мишень Sirt1 белок p53 играет центральную роль в опосредованной Sirt1 регуляции сенесенса [187]. Показано, что в кардиомиоцитах стареющих животных нарушается нуклео плазматическое перемещение Sirt-1, что снижает его активность и, напротив, приводит к повышению активности белка p53, что стимулирует сенесенс клеток сердца [188].

Ресвератрол. Ресвератрол (RSV) — природный фитоалексин, полифенол — производное транс-стильбена. Полагают что сенесенс-протективный эффект RSV осуществляется посредством активации Sirt-1, приводящей к подавлению экспрессии белка p53 [190] и ингибированию активности инфламмасы NLRP3 [189]. Кроме того, RSV также повышает деацетилазную активность Sirt-1 за счёт усиления его связывания с ламином A — белковым активатором Sirt-1 [191].

В модельных экспериментах, воспроизводящих инфаркт миокарда у мышей, показано, что RSV, обладающий мощными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, ингибировал экспрессию сенесенс-связанных белков (p16^{INK4a}, p19 и p53) и NLRP3, а также подавлял экспрессию интерлейкинов IL-1β, IL-6 и IL-18, а также TNF-α. Согласно результатам морфогистологических исследований, такое сеностатическое действие RSV препятствовало формированию SASP кардиомиоцитов и кардиофибробластов и приводило к уменьшению интенсивности фиброза и площади инфаркта миокарда [189]. В экспериментах *in vitro* RSV предотвращал индуцированный гипоксией сенесенс кардиомиоцитов, выделенных у новорождённых крыс (NRCM) [189]. Авторы этого исследования приходят к заключению о том, что RSV в экспериментах *in vivo* препятствует образованию сенесцентных кардиомиоцитов в ишемизированном миокарде, а в экспериментах *in vitro* предупреждает

развитие вызванного гипоксией сенесенса в NRCM.

В январе этого года были опубликованы результаты метаанализа (проанализированы 43 исследования), целью которого была оценка кардиопротективных эффектов RSV на модели ишемия-реперфузионного повреждения миокарда у крыс [192]. Авторы этого анализа сообщают о том, что RSV может в условиях ишемия/реперфузия уменьшить воспалительную реакцию и окислительное повреждение кардиомиоцитов, улучшить систолическую и диастолическую функцию левого желудочка сердца, уменьшить девиацию сегмента ST на ЭКГ и размер инфаркта миокарда, однако эти данные требуют дополнительного подтверждения.

Следует отметить, что имеются единичные сообщения о том, что RSV не является прямым активатором Sirt-1 [193].

В литературе также приводятся данные о том, что и метформин обладает свойствами прямого агониста Sirt-1 и в процессе старения может замедлять формирование сенесенса, вызванное, в том числе, и снижением уровня NAD⁺ [194].

Ингибиторы сигнального пути JAK / STAT, Руксолитиниб / Inhibitors of the JAK/STAT signaling pathway, Ruxolitinib

Сигнальный путь янус-киназа/активатор транскрипционных белков (JAK/STAT) играет жизненно важную роль в контроле продукции цитокинов [195], а поскольку молекулы SASP обычно экскретируют провоспалительные цитокины и хемокины, ингибирование пути JAK/STAT представляется привлекательным кандидатом для создания сеностатиков [196]. Показано, что у старых крыс повышены уровни экспрессии активированных янус-киназ — JAK1 и JAK2, с чем авторы связывают формирование сенесенса [141]. Аналогичные данные получены и в экспериментах *in vitro*, в которых показана решающая роль сигнального пути JAK/STAT в инициации сенесенса стволовых клеток хрящевого происхождения [197].

Руксолитиниб, ингибитор JAK1/2, уменьшает возрастные изменения в жировой ткани, резистентность к инсулину и дисфункцию стволовых клеток на моделях старения животных [15].

В экспериментах, выполненных на «пожилых» ослабленных 24-месячных мышах-самцах линии C57BL, показано, что селективный ингибитор JAK1/2 руксолитиниб (INCB18424) повышает физическую активность и частично восстанавливает сниженную с возрастом координацию движений. Помимо этого, подавление активности JAK1/2 способствовало понижению избыточной массы жировой ткани и уменьшало системное воспаление у «пожилых» мышей, о чём свидетельствует значимое уменьшение экспрессии таких маркеров воспаления, как IL-6, TNF-α, а также матричных металлопротеиназ 3 и 12 типов (ММП 3 и 12) [141].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на стареющих преадипоцитах, показано, что в них повышен уровень мРНК таких ключевых компонентов SASP,

как IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), MMP-3, MMP-12, ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) и TNF- α . Внесение в культуру клеток стареющих преадипоцитов руксолитиниба снижало уровень мРНК IL-6, IL-8 и MCP-1 $\approx$ на 60 %, а уровень мРНК MMP-3 и MMP-12 $\approx$ на 80 % [141].

Близкие результаты получены в работе Griveau A *с соавт.*, которые в экспериментах на клеточной культуре фибробластов человека (MRC5) показали, что ингибирование пути JAK1/2 руксолитинибом предотвращает индуцированную прогеринном остановку клеточного цикла, преждевременное старение клеток и деформацию ядер [198], а в экспериментах на мышах продемонстрировали, что руксолитиниб снижает проявления нескольких фенотипов преждевременного старения, в частности уменьшает риск переломов ребер, повышает содержание минеральных веществ в костной ткани, увеличивает силу захвата и выживаемость животных.

Ингибиторы белка, связывающего полупиримидиновый тракт 1 (Ptbp1) / Inhibitors of the protein binding the polypyrimidine tract 1 (Ptbp1)

Белок, связывающий полипиримидиновый тракт 1 (Ptbp1), член семейства гетерогенных ядерных рибонуклеопротеинов (hnRNP), принимает участие в регуляции процессинга пре-мРНК и других аспектах метаболизма и транспорта мРНК.

РНК-опосредованный интерференционный скрининг показал, что нацеливание на альтернативный сплайсинг (*вариант сплайсинга матричных РНК (мРНК), при котором в ходе экспрессии гена на основе одного и того же первичного транскрипта (пре-мРНК) происходит образование нескольких зрелых мРНК*) в стареющих клетках может быть жизнеспособным подходом для ингибирования SASP [199]. Georgilis A. *с соавт.* в диплоидных фибробластах человека, управляемых Ras, провели крупномасштабный библиотечный анализ РНК-интерференции (RNAi) для выявления транскриптов, нокдаун которых «отключает» связанный со старением SASP без ущерба для здоровых клеток [200]. В результате этих исследований был обнаружен регулятор альтернативного сплайсинга — белок Ptbp1, который регулирует альтернативный сплайсинг генов (EXOC7 и SNX14), контролирующих SASP. Было показано, что прямой нокдаун Ptbp1 сопровождается значимым ослаблением в различных клеточных линиях провоспалительного влияния SASP.

Помимо этого, в экспериментах *in vitro* показано, что истощение Ptbp1 способствовало получению сердечного транскрипта и повышало эффективность перепрограммирования мышинных фибробластов в индуцированные кардиомиоциты, что предлагает новую стратегию регенерации тканей миокарда [201].

Подобно сенолитическим средствам, лечение ингибиторами SASP должно быть прерывистым, чтобы

предотвратить побочные эффекты, связанные с действием этих препаратов на другие внутриклеточные сигнальные пути. Например, рапамицин может вызывать резистентность к инсулину [15].

Сенореверторы (Senoreverters)

В последнее время в литературе появились сообщения о том, что в определённых типах клеток сенесенс можно обратить вспять путём «возвращения» этих клеток в нормальный клеточный цикл, т. е. о возможном новом подходе к сенотерапии — создании сенореверторов [202]. Показано, что подавление сигнальных каскадов, сопряжённых с NF- κ B и/или mTOR, и/или PDK1 в стареющих фибробластах кожи человека устраняет признаки сенесенса и переводит клетки из стареющего фенотипа в состояние покоя, что приводит к восстановлению способности кожи к регенерации [203]. Lapasset L *с соавт.* продемонстрировали возможность прямого перепрограммирования сенесцентных соматических клеток в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC) при помощи шестифакторной комбинации генов OSKM, дополнительно содержащей гены NANOG и LIN28 [204]. Авторы этого исследования приходят к выводу, что «в совокупности наши результаты показывают, что, используя адекватную стратегию перепрограммирования, возможно эффективно перепрограммировать сенесцентные клетки и клетки, полученные от очень старых особей, в iPSC, и что сенесенс не является препятствием для перепрограммирования в сторону плюрипотентности».

В конце 2021 года Paramos-de-Carvalho D. в статье, опубликованной в журнале eLife, основываясь на анализе этих и ряде других публикаций, пишет: «Серьёзный вопрос, который следует рассмотреть, заключается в том, действительно ли мы хотим в конечном итоге уничтожить сенесцентные клетки, которые когда-то были фундаментальной и неотъемлемой частью гомеостаза нашего организма. Это может иметь решающее значение в тканях, не обладающих способностью к регенерации, например таких как нейроны ЦНС или кардиомициты, т. е. к возможности восстановления («повторному заселению») сенесцентных клеток. В определённых сценариях революционная стратегия заключалась бы в способности эффективно возвращать сенесцентные клетки в их исходное состояние. В связи с этим разработка «senoreverters» может стать ценной терапевтической стратегией, нацеленной на сенесенс. Однако следует тщательно изучить возможные последствия использования «senoreverters» для обращения вспять состояния сенесенса» [205].

Заключение / Conclusion

Преждевременное старение сердца — сенесенс — в настоящее время рассматривают как потенциальную причину развития самых разнообразных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Пред-

полагается, что критическое накопление массы сенесцентных клеток, т. е. формирование активного SASP-фенотипа, приводит к паракринно-обусловленному увеличению числа сенесцентных клеток, которое опережает способность иммунной системы их элиминировать, что приводит к «лавинообразному» накоплению стареющих клеток и резкому прогрессированию патологического процесса. Не менее важно и то, что ускоренное накопление стареющих клеток с активным SASP-фенотипом может предрасполагать к формированию самых различных возрастных заболеваний и, возможно, лежать в основе развития возрастной мультиморбидности.

Следует также отметить, что вопрос, каким образом каждый тип клеток, формирующих ткань сердца, в условиях сенесценсы влияет на его функциональную активность, достаточно далек от своего решения. Вместе с тем, именно ответ на этот вопрос позволяет разработать эффективные и специализированные фармакологические стратегии, направленные на предотвращение формирования стресс-обусловленного сенесценсы в ткани сердца.

Это направление исследований представляется крайне важным, поскольку известно, что ткань сердца на $\approx 25\text{--}30\%$ формируют сократительные и проводящие кардиомиоциты и на $\approx 70\%$ не кардиомиоциты, преимущественно кардиофибробласты и эндотелиальные клетки и в меньшей степени $\approx 5\%$ перикарды. Но даже если говорить о сократительных кардиомиоцитах, следует отметить, что они далеко не однородны: сократительные кардиомиоциты предсердий, в отличие от желудочковых, в частности имеют способность к митозу, содержат на 40% меньше миофибриллярных элементов и имеют секреторные гранулы, экскретирующие натрийуретический пептид и, возможно, ренин.

Помимо этого, существует достаточно большое количество других фундаментальных проблем, требующих своего решения, среди них: динамика появ-

ления и накопления сенесцентных клеток; их вклад в формирование/прогрессирование системных и/или локальных патофизиологических процессов; гетерогенность клеточного старения; поиск единого универсального маркера сенесценсы и т. д.

Хочется надеяться, что начатые в последнее время эпигенетические, метаболомные или протеомные исследования механизмов, лежащих в основе сенесценс-обусловленного поражения сердца, позволят решить эти и другие фундаментальные проблемы и предложат персонализированную терапию заболеваний, связанных с сенесценсом.

Также далека от своего окончательного решения и проблема создания высокоэффективных сенотерапевтических средств. Первые публикации, посвященные такого рода соединениям, относятся к 2015 году. В настоящее время известно уже более 20 биологически активных соединений и лекарственных средств, обладающих сенолитической и/или сеностатической активностью.

Вместе с тем, несмотря на то что результаты доклинических исследований являются многообещающими, до настоящего времени отсутствуют клинические испытания, демонстрирующие безопасность и эффективность сенолитиков или ингибиторов SASP. Не менее важно и то, что практически все известные биологически активные соединения и препараты в определенной мере, за исключением метформина, обладают широким спектром побочных эффектов, что в существенной мере ставит под вопрос целесообразность их клинического применения.

Таким образом, можно говорить о том, что поиск новых оригинальных, ключевых для формирования сенесценсы биомолекул и создание на их основе инновационных лекарственных средств, в частности кардиотропных, обладающих сенолитической и/или сеностатической активностью, представляется актуальной задачей.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

См. список литературы на сайте

https://www.pharmacokinetica.ru/jour/manager/files/литература_Статья_Крыжановский.pdf

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Крыжановский Сергей Александрович

Автор, ответственный за переписку

д. м. н., зав. лабораторией фармакологии
кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных
и перспективных биомедицинских и
фармацевтических технологий», Москва,
Российская Федерация

e-mail: kryzhanovskij_sa@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>

РИНЦ SPIN-код: 6596-4865

Sergey A. Kryzhanovskii

Corresponding author

PhD, Dr. Sci. (Med.), Head of Laboratory of Cir-
culation Pharmacology Federal research center for
innovator and emerging biomedical and pharma-
ceutical technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kryzhanovskij_sa@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>

RSCI SPIN code: 6596-4865

Вититнова Марина Борисовна

к. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии
кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных
и перспективных биомедицинских и
фармацевтических технологий», Москва,
Российская Федерация

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>

РИНЦ SPIN-код: 1901-8919

Marina B. Vititnova

PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of
Laboratory of Circulation Pharmacology Federal
research center for innovator and emerging bio-
medical and pharmaceutical technologies, Moscow,
Russian Federation

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>

RSCI SPIN code: 1901-8919