

ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ ТКАНИННОЇ СИСТЕМИ В АСПЕКТІ МАТЕМАТИЧНОГО ЗАКОНУ СТАРІННЯ

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова
НАМН України», Одеса,

* Одеський національний медичний університет

Вступ

Відомий феномен, описаний Леонардом Хейфліком, зробив у другій половині минулого століття метод культури тканини центральним в експериментальній геронтології. На думку Л. Хейфліка, який поширив термін «реплікативне старіння», суть старіння — у втраті здатності клітин до поділу. Однак такий підхід несе в собі методологічну помилку, що переносить старіння з об'єкта (організм) на процес (поділ клітин). При цьому здатність клітини до поділу береться як головний критерій для оцінки ступеня старіння, відкидаючи на задній план властивості, що характеризують функціональні можливості організму. Разом із тим, як резонно було помічено деякими авторами ще до відкриття теломерази, без припинення поділу неможливе створення диференційованих тканин в організмі. Тому в регуляції тривалості поділу швидше проглядається механізм створення спеціалізованих тканин, ніж старіння. Саме у спеціалізованих тканинах відбуваються зміни, що формують феномен старого організму. Тому причину старіння багатоклітинного організму потрібно шукати не в тому, що обмежує проліферацію, а в тому, що знижує функціональні можливості

диференційованих тканин. Тим більше що саме високоспеціалізовані тканини, які виконують життєво важливі функції, не поповнюють клітинного складу протягом життя. Наприклад, нерідко старіння нейром'язової системи серця стає причиною смерті організму, при тому що в епідермісі, ліберкюнових криптах або кістковому мозку триває оновлення клітин.

Таким чином, ми звертаємо увагу на те, що у старінні багатоклітинних організмів важливе значення мають зміни тканинних систем, клітини яких завершили свій проліферативний цикл і протягом усього життя їх кількість лише зменшується. Про цей аспект старіння добре відомо, однак зміна з віком чисельності клітин у тканинах не привертає уваги дослідників, що частково пов'язано з недостатньою ефективністю методів підрахунку клітин у більшості тканин, які дають лише приблизні дані про клітинну чисельність. Єдиною тканиною, де такі дослідження, завдяки вдосконаленню та поширенню в 80–90-х роках минулого століття дзеркальної мікроскопії, не тільки набули максимальної точності, а й стали невід'ємною частиною клінічного контролю, є ендотелій рогівки. В офтальмології багаторічна клінічна практика виробила надійні емпіричні

критерії, згідно з якими функціональні спроможності рогівки ставляться в залежність від чисельності клітин (щільності). Простежуючи зменшення клітин з віком, можна бачити відповідну втрату функції в тому чи іншому обсязі. Аналіз взаємозв'язку між віковим зменшенням чисельності клітин в ендотелії рогівки та втратою даною тканиною функціональних і адаптаційних можливостей дозволив нам звернути увагу на особливий характер вікової елімінації клітин [1–3].

Тому, на відміну від поширеної геронтологічної традиції, ми обрали як об'єкт для вивчення вікових змін не окремі клітини, а цілісну тканинну систему — ендотелій рогівки. Точніше кажучи, об'єктом дослідження була вся рогівка як трансплантаційний матеріал. Справа в тому, що, на відміну від так званої великої трансплантології, у кератотрансплантології віковий фактор набув конкретних морфологічних вимог завдяки ендотеліальній мікроскопії. Так, було доведено, що прозорість рогівки визначається кількістю (щільністю) клітинного моношару, який здійснює бар'єрну функцію і перешкоджає проникненню камерної вологи в строму рогівки. Установлено, що така критична щільність знаходиться поблизу позначки 500 кл/мм²,

Щільність ендотеліальних клітин рогівки в різних вікових групах

Вікова група, років	Середній вік, $M \pm m$	Щільність клітин на 1 мм^2 , $M \pm m$	Кількість рогівок	Кількість донорів	Парні рогівки, %
21–30	26,8 \pm 2,3	3560 \pm 470	19	11	73
31–40	36,1 \pm 1,4	3380 \pm 170	19	13	46
41–50	46,1 \pm 2,7	3100 \pm 290	53	37	43
51–60	55,7 \pm 2,5	2970 \pm 360	110	78	41
61–70	64,5 \pm 2,2	2850 \pm 250	85	57	4

після чого рогівка починає втрачати здатність до підтримки своєї прозорості. Таким чином, вперше в трансплантології критерієм для відбору донорського матеріалу став не вік, а кількісний показник, що визначає функціональну здатність донорського матеріалу (він повинен бути не менше 2500 кл/мм^2).

Звичайно, щільність клітин ендотелію рогівки залежить від віку. Однак тут потрібно звернути увагу на те, що критерієм вікової зношеності тканини стає не передбачуване (але досі не знайдене) старіння клітин, а цілком реальна їх кількість, втрачена тканинною системою за певний відрізок часу.

Метою роботи було вивчення вікових змін щільності клітин ендотелію рогівки з подальшим аналізом результатів у аспекті математичної моделі старіння.

У роботі представлені дані про щільність (кількість клітин на 1 мм^2) ендотеліальних клітин, отримані за допомогою мультианалізуючого ендотеліального мікроскопа. Проаналізовано паспортні дані 286 рогівок від 196 трупних донорів у віці від 20 до 70 років, надані з очного банку.

Результати дослідження та їх обговорення

Дані про щільність ендотеліальних клітин у різних вікових групах представлені в табл. 1.

З наведених у табл. 1 даних видно зв'язок між віком і щільністю клітин ендотеліального моношару рогівки, що в ракурсі сформованих уявлень про старіння виглядає начебто закономірним, так само як і те, що зменшення кількості (щільності) ендотеліальних клітин послаблює функціональні можливості даної тканинної системи. Однак якщо представлені

дані розглядати з точки зору математичного закону старіння, то факт зменшення кількості клітин з віком не виглядає настільки очевидним, як може здатися на перший погляд. Дійсно, іншої причини, крім старіння, у даному випадку назвати не можна, тому що донорський матеріал забирався виключно за умови відсутності будь-якого захворювання очей. Однак якщо причиною зменшення кількості ендотеліальних клітин є старіння, то воно не може стосуватися самих клітин. Цей висновок здається парадоксальним, адже математичну формулу закону смертності можна застосувати до будь-яких старіючих об'єктів, бо він відображає загальний принцип — експоненціальне спадання чисельності популяції. Втім, це вірно лише у тому випадку, коли клітини є самостійною популяцією. Якщо ж вони входять до складу тканин і органів, що забезпечують життєздатність цілого організму, то їх елімінація не може бути результатом старіння. Адже якщо клітини елімінуються через їх старіння, то, відповідно до математичного закону старіння, ймовірність їх елімінації збільшуватиметься з віком. Проте одночасно з втратою клітин знижуватиметься життєздатність тканин і організму в цілому. Однак у цьому випадку математичний закон Гомпертца щодо всього організму

не виконується. Уявний парадокс стане зрозумілим, якщо звернутися до математичного закону Гомпертца:

$$p_{(t)} = R \exp(kt), \quad (1)$$

де $p_{(t)}$ — ймовірність смерті в певному віці t (у диференційному варіанті точніше казати про інтенсивність смертності — ймовірності смерті на нескінченному малому відрізку часу); k і R — параметри функції, засновані на емпіричних даних.

Експонентний коефіцієнт k у формулі відображає втрату життєздатності та є константою. Але якщо ми припустимо, що старіючі клітини елімінуються з тканин організму також, як гинуть з віком самі організми, то коефіцієнт k перестане бути константою. Навпаки, коефіцієнт k збереже властивості константи, якщо припустити, що клітини старіють, але не елімінуються, а залишаються в складі тканин до кінця життя. У цьому разі втрата життєздатності буде зумовлена тим, що втрачається в самих старіючих клітинах, і закон Гомпертца не порушується.

Саме з цієї причини ми звертаємо увагу на вікову елімінацію клітин ендотеліального моношару як на особливий феномен, який не має відношення до старіння клітин. Підтвердженням можуть служити наведені вище дані про вікові елімінації клітин в ендотелії рогівки. Так, за табличними даними мож-

на визначити коефіцієнт смертності (елімінації) клітин як відношення кількості загиблих за певний відрізок часу до вихідної чисельності на даний час. Якщо визначити коефіцієнт смертності на всьому проміжку між першою і останньою віковою групами, то отримаємо такі величини:

$3560 - 3380 / 3560 = 0,05$ — смертність у проміжку між 1-ю і 2-ю групою;

$3380 - 3100 / 3380 = 0,08$ — смертність у проміжку між 2-ю і 3-ю групою;

$3100 - 2970 / 3100 = 0,04$ — смертність у проміжку між 3-ю і 4-ю групою;

$2970 - 2850 / 2970 = 0,04$ — смертність у проміжку між 4-ю і 5-ю групою.

Як видно на відріжку, що охоплює більшу частину людського життя (від 20 до 70 років), ймовірність смерті клітин (елімінації) не збільшується, а зберігається приблизно на одному рівні, що різко контрастує зі звичайною демографічною статистикою, яка фіксує неухильне зростання ймовірності смерті з віком у цей же період. Таким чином, втрата клітин ендотеліального моношару має вік-незалежний характер, тобто відбувається за законом систем, що експоненціально розпадаються. Тому вік клітин ендотелію рогівки має лише хронологічний, але не біологічний сенс. Адже час життя клітини у складі тканинної системи визначається не її старінням, а випадковим фактором. Тому середня тривалість життя стає величиною, оберненою до константи розпаду. Останню можна знайти з формули закону Гомпертца як ймовірність загибелі клітини в тканинній системі. Так, якщо зростання ймовірності смерті є результатом зниження опірності смерті, тобто втрати життєздатності,

то відповідно до формули (1) це можна уявити як експоненціальне убування життєвої сили:

$$V_t = V_0 \exp(-kt),$$

або

$$V_t = V_0 e^{-kt}, \quad (2)$$

де V — життєздатність (від *Vita* — життя) в початковому (V_0) і кінцевому (V_t) моменті часу життя — t ; k — коефіцієнт зменшення життєздатності (взятий зі знаком мінус); e — основа натурального логарифма. З формули (2):

$$k = \ln V_t / V_0 / t. \quad (3)$$

Підставивши у формулу (3) дані з першого й останнього рядків таблиці: $V_t = 2850$, $V_0 = 3560$, $t = 37,7$ (64,5 – 26,8), отримуємо $k \approx 0,006$. Звідси середня тривалість життя для клітин ендотелію рогівки (в інтервалі 20–70 років) може бути оцінена приблизно в 166 років: $1 / k = 1 / 0,006 \approx 166$. Цікаво, що життєвий резерв ендотелію рогівки виходить значно вищим, ніж тривалість життя людини. Непрямим підтвердженням цього є трансплантація рогівки. Так, клінічна практика показує, що можна пересадити рогівку від донора 70–80 років (середня щільність ендотеліальних клітин, як видно з табл. 1, у цьому віці нерідко вище необхідної — 2500 кл/мм²) реципієнту 20–30 років, у якого даний трансплантат може бути функціонально придатний ще протягом 50–60 років.

Висновки

Зменшення клітинної чисельності тканинної системи веде до втрати її функціональної здатності. Саме цей принцип відображає така тканинна система, як ендотелій рогівки, вікову зміну якої можна розглядати як модель старіння тканин в організмі. На прикладі ендотелію ро-

гівки можна побачити біологічний сенс математичного закону Гомпертца у вигляді зв'язку між експоненціальним зростанням ймовірності смерті організму та експоненціальним зниженням життєздатності окремих тканин.

Як очевидно, для рогівки життєздатність — це її спроможність підтримувати прозорість, що пов'язана з чисельністю (щільністю) клітин ендотеліального моношару. Ця здатність знижується з віком одночасно зі зменшенням кількості клітин. Проте оскільки вікове зниження клітинної чисельності відбувається, як свідчать наведені вище дані, відповідно до формули (2), то можна стверджувати, що втрата (елімінація) клітин має вік-незалежний характер, тобто не зумовлений старінням клітин. Таким чином, старіння тканинної системи, яке демонструє ендотеліальний моношар, математично описується формулою експоненціального розпаду, що і підтверджують спостереження за зміною чисельності ендотеліальних клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Артемов А. В. Донорская роговица в аспекте современной патологии / А. В. Артемов. — Одесса : Интерпринт, 2007. — 186 с.
2. Артемов А. В. Феномен возраст-независимой потери клеток эндотелия роговицы как отражение универсального механизма старения / А. В. Артемов // Проблемы старения и долголетия : V конгресс геронтологов и геронтологов Украины, Киев, 12–14 октября 2010 г. : тезисы. — К., 2010. — Т. 19, № 3. — С. 221.
3. Артемов А. В. Эндотелий донорской роговицы в процессе старения / А. В. Артемов, О. Г. Неверова, С. И. Ильина // Офтальмология. Восточная Европа. — 2016. — № 3. — С. 340–345.

Надійшла 22.03.2017

ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ ТКАНИННОЇ СИСТЕМИ В АСПЕКТІ МАТЕМАТИЧНОГО ЗАКОНУ СТАРІННЯ

Представлені дані про вікові зміни щільності клітин ендотелію рогівки, отримані за допомогою мультианалізуючого ендотеліального мікроскопа. Вивчено дані 286 рогівок від 196 трупних донорів у віці від 20 до 70 років з подальшим аналізом результатів у аспекті математичної моделі старіння.

Життєздатність рогівки — це її спроможність підтримувати прозорість, що пов'язано з чисельністю (щільністю) клітин ендотеліального моношару. Ця здатність знижується з віком одночасно зі зменшенням кількості клітин. Проте оскільки вікове зниження клітинної чисельності відбувається, як свідчать представлені в роботі дані, відповідно до формули експоненціального розпаду, можна стверджувати, що втрата (елімінація) клітин має вік-незалежний характер, тобто не зумовлений старінням клітин. Таким чином, старіння тканинної системи, яке демонструє ендотеліальний моношар, можна математично описати формулою експоненціального розпаду, що підтверджують спостереження за зміною чисельності ендотеліальних клітин, які мають вік-незалежний характер.

Ключові слова: старіння, ендотелій рогівки, розпад тканинної системи.

LIFETIME OF TISSUE IN ASPECT OF THE MATHEMATICAL LAW OF AGEING

The data about age changes of density of the endothelial cells of the cornea received by means of the multi-analyzing mirror microscope is presented. The data of 286 corneas from 196 corpse donors at the age from 20 till 70 years, with the subsequent analysis of results in aspect of a mathematical model of ageing, is studied.

Viability of a cornea is its ability to sustain a transparency that is connected with number (density) of cells of endothelial monolayer. This ability drops with age simultaneously with reduction of number of cells. But as during age the cellular number descends according to the formula of exponential disintegration, as the presented data testify, it is possible to assert that loss (elimination) of cells has age-independent character, i. e. is not caused by ageing of cells. Thus, ageing of histic system, which shows the endothelial monolayer, is possible to describe by the formula of exponential disintegration. Supervision of the age changes of the cellular number, having age-independent character, testify it.

Key words: ageing, endothelium of cornea, disintegration of tissue.

УДК 616.092.9В. В. Бабієнко, *д-р мед. наук, проф.*,

І. В. Сахарова,

В. Ю. Левковська, *канд. мед. наук*

ОЦІНКА БІОТРАНСФОРМАЦІЇ АМІНОМЕТИЛІЗОНОНІЛФЕНОЛУ ТА ЙОГО ОКСІЕТИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ ПРИ ПІДГОСТРОМУ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ ЩУРАМ

Одеський національний медичний університет

Для оцінки резервних можливостей та стійкості організму до несприятливого впливу хімічних факторів доквілля інформативним є вивчення у печінці активності мікросомального окиснення. Саме останньому належить провідна роль у біотрансформації чужорідних хімічних речовин в організмі [1; 2]. Сьогодні розповсюдженими забруднювачами водних об'єктів доквілля, у тому числі й джерел водопостачання населення, є хімічні речовини торговельної марки «Неонол», синтезовані конденсацією ізоналіфенолу з

тетраметилпропілентріаміном (реакція Манніха), — амінометилізонілфенол (АМІНФ) та його оксіетильовані похідні з числом оксіетильованих груп 4 та 12 (АМІНФ_{4, 12}). За хімічною будовою та фізико-хімічними властивостями дані речовини, з одного боку, є фенольними основами Манніха, а з другого — іоногенними нітрогеновмісними поверхнево-активними речовинами. Для АМІНФ та його оксіетильованих похідних відсутня повна інформація щодо ступеня їх небезпеки щодо здоров'я людини. Головним у систе-

мі попереджувальних заходів, спрямованих на виключення шкідливих наслідків хімізації народного господарства, є дотримання допустимих рівнів впливу хімічних речовин. У реалізації останнього провідну роль відіграють комплексні токсиколого-гігієнічні дослідження, об'єднані у кілька етапів, одним з яких є виявлення особливостей токсичної дії на організм.

Метою даного дослідження було оцінити у підгострому експерименті вплив амінометилізонілфенолу та його оксіетильованих похідних з числом ок-