

Кандидат
биологических наук
В.А.Чистяков



В.П. Скулачев

SkQ, они же ионы Скулачева

О том, что академик В.П.Скулачев изобрел средство «против старения», российские СМИ пишут и говорят уже давно. Тон публикаций самый хвалебный, но что за средство — толком не объясняют, в лучшем случае сообщают, что его действие связано с кислородом и окислением. Чтобы внести хоть какую-то ясность в этот вопрос, «Химия и жизнь» предоставляет слово автору, который почти год назад писал для нас о биохимических средствах против старения, предложенных американским ученым Брюсом Эймсом. Эту статью, таким образом, можно рассматривать как продолжение темы — и весьма интересное продолжение.

Внимательное наблюдение за человеческой историей убеждает, что в самых разных ее областях порой разыгрываются если не идентичные, то очень похожие сценарии. Отсюда, кстати, периодически входящее в моду стремление «ниспровергателей» объявить древнюю историю переносом в прошлое недавних событий. Но интереснее другое: используя этот «принцип гомологии», можно попытаться прогнозировать развитие новых технологий, анализируя процессы, происходившие ранее в более развитых отраслях.

Наблюдая за развитием современной геронтологии, я не мог отделаться от мысли, что оно мне что-то напоминает. Что именно — я понял после того, как в марте этого года благодаря приглашению академика В.П.Скулачева смог принять участие в рабочем совещании компании «Митотехнология». На сове-

щании были подведены первые итоги испытаний ионов Скулачева — антиоксидантов нового поколения, призванных стать средством контроля многих кислородных патологий, в том числе и старения. Этот крупнейший отечественный биотехнологический проект, руководимый академиком В.П.Скулачевым, финансирует принадлежащая О.В.Дерипаске «Русско-Азиатская инвестиционная компания».

Главным философским итогом совещания (поверьте, уважаемые читатели, настоящая философия — это практичнейшая из наук, в отличие от разговоров о философии) стало для меня то, что развитие технологий борьбы со старостью практически точно повторяет историю освоения человеком воздушного пространства. Эту идею я попытаюсь проиллюстрировать схемой, но, чтобы понять, о чем идет речь, читателю желательно вспомнить мою статью о работах Брюса Эймса (см. «Химию и жизнь», 2006, № 6).

Итак, принципом первого этапа освоения воздушного пространства было пассивное следование за воздушными потоками. Достигалось это за счет использования ап-

Подход	Пассивный	Пассивный с элементами активного	Активный
Освоение воздушного пространства	Воздушные шары — братья Монгольфье	Дирижабли — Ф. фон Цеппелин	Аэропланы — братья Райт
	1783	1900	1903
Контроль над старением	Современная гериатрия; пробиотики, витамины и т. д. — И. И. Мечников	Высокоэффективные смеси природных веществ — Б. Эймс	Ионы Скулачева — В. П. Скулачев
	1903	2002	2007

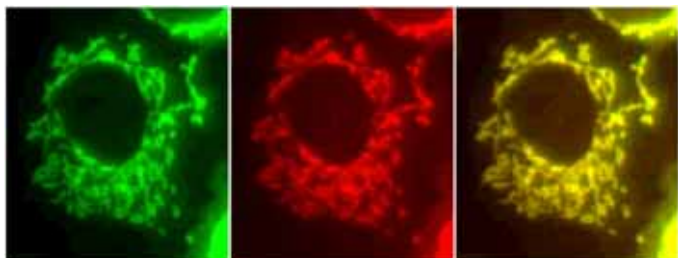
Технологии освоения воздушного пространства и контроля над старением развивались гомологично

паратов легче воздуха. Большого практического значения такая технология не имела.

Геронтология с момента введения этого термина нашим великим соотечественником И.И.Мечниковым и до недавнего времени ставила своей задачей обеспечение «правильного старения», то есть реализации всех возможностей организма в рамках естественного процесса угасания. Средствами для этого стали пробиотики (культуры микроорганизмов, нормализующие микрофлору кишечника), витамины и природные биологически активные вещества, ограничение питания, физкультура и т. д. О практическом эффекте этого подхода писать не буду, чтобы не обижать многих достойных людей. Отмечу лишь, что стратегия эта, безусловно, относится к числу пассивных.

В конце XIX века появились двигатели внутреннего сгорания, легкие и прочные материалы для каркаса, резина. Возникла техническая возможность объединить старый принцип воздухоплавания с новым принципом активного полета. Реализовать эту очевидную, в общем, идею пытались разные изобретатели. Очевидную — поскольку любому здравомыслящему человеку в начале XX века было ясно, что воздушный шар с мотором и пропеллером в принципе должен летать. Но для того чтобы сконструировать «правильный» дирижабль с «правильным» мотором и винтом, понадобился талант графа Цепелина. Именно поэтому слова «цепелин» и «дирижабль» надолго стали синонимами.

В конце XX века прогресс в исследовании клеточной биохимии достиг уровня, позволяющего просчитывать последствия введения в обмен веществ дополнительных количеств тех или иных природных соединений. Это дало импульс множеству попыток улучшить жизнь человека, особенно в зрелом возрасте, при помощи больших количеств метаболитов. Достаточно вспомнить Лайнуса Поллинга с аскорбиновой кислотой, энтузиастов применения янтарной кислоты и глицина и т. д. Идея добавить в старый организм какие-то недостающие вещества и тем самым сделать его более «биохимически молодым» в общем-то тривиальна. Но практически реализовать ее, то есть получить наглядный, сильный и воспроизводимый эффект, впервые удалось американскому биохимику Брюсу Эймсу. Он и его коллеги подобрали пару веществ — ацетил-L-карнитин и липоевую кислоту, которые имитировали омолаживающий эффект голодания. Эти вещества, если принимать их в достаточно больших концентрациях, снимают накопившиеся за годы жизни последствия окислительного стресса. На уровне организма это проявилось в виде омоложения. А уже через два года после публикации научных статей в США поступило в продажу средство против старения, созданное на основе результатов Эймса (подробности на www.juvenon.com).



На левой микрофотографии изображен препарат клетки, митохондрии которой помечены специальным флуоресцирующим белком (зеленый цвет), на средней — тот же препарат, обработанный ионом Скулачева SkQR1, который флуоресцировал красным. Наложение изображений (справа) показывает, что SkQR1 накапливается в митохондриях: чистого зеленого почти не видно. Почему это хорошо — узнаете из статьи



В верхней части фотографии — мышь из контроля, главная долгожительница в своей группе. Ее возраст, для мыши весьма пожилой, — 814 дней, и выглядит она не очень. Нижняя мышка того же возраста получала SkQ; 12 апреля 2007 ей исполнилось 849 дней. Различия видны невооруженным глазом

Но, как известно, цепелины не стали главным средством освоения воздушного океана. Более перспективным оказался иной, революционный для своего времени подход: создание летательных аппаратов тяжелее воздуха. Главное преимущество аэропланов перед дирижаблями — большая независимость от естественных процессов в атмосфере — связано с большей чужеродностью самолета для воздушной среды. Именно поэтому создание авиации было более сложной и драматичной задачей. Если цепелины сразу после постройки довольно сносно летали над Боденским озером, то первый полет биплана братьев Райт продолжался всего 59 секунд. Но именно с этого полета началась история самого эффективного средства освоения атмосферы.

Результаты первого рабочего совещания по проекту, о котором идет речь, убеждают (во всяком случае, убедили меня), что «ионы Скулачева» могут стать в геронтологии тем, чем стали аэропланы в истории авиации. Эти вещества, в отличие от выбранных Эймсом ацетил-L-карнитина и липоевой кислоты, не синтезируются в организме и в то же время вполне способны «летать» в безбрежном океане внутриклеточного обмена веществ и находить в нем дорогу к цели.

Далее я постараюсь рассказать об итогах совещания читателям «Химии и жизни», освещая в основном фундаментальные принципы дизайна и действия этих веществ, а не яркие внешние эффекты, уже не раз описанные коллегами-журналистами.

Старение и кислород

Существуют две главные теории старения. Странники одной из них считают старение результатом накопления множества мелких повреждений. Для краткости назовем ее теорией износа. Последователи другой считают, что старение — это реализация особой программы. При сопоставлении аргументов сторонников обеих теорий складывается впечатление, что большая часть разногласий связана с терминологией — люди по-разному понимают, что такое износ и что такое программа. Но поставим вопрос по-другому: находится ли старение под генетическим контролем?

На этот вопрос любому профессиональному биологу или медику придется ответить положительно. С одной стороны, есть генетическая болезнь прогерия — синдром преждевременного старения. Этот синдром наследуется так же, как и любой другой детерминированный генетически признак, например цвет глаз или выпяченная губа Габсбургов. А с другой стороны, есть мутации, которые значительно, в разы,

Благодарим за предоставленные фотографии Б.В.Черняка (МГУ), профессора В.Н.Анисимова (НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова, Санкт-Петербург) и профессора Г.М.Федоренко (Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону)



ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

замедляют старение. Причем это обычные мутации — поломки определенных генов. Контроль генов над физиологическими признаками осуществляется без всякой мистики — при помощи синтеза определенных веществ. Поэтому, вводя вещества в клетку извне, можно имитировать эффекты действия генов, в том числе и замедление старения.

Согласно результатам исследований, одно только перечисление которых заняло бы, наверное, весь объем статьи, старение провоцируют активные формы кислорода. И для того чтобы понять, о чем пойдет речь дальше, желательно в самой общей форме представить, что это за частицы и откуда они берутся.

Без кислорода жизнь в ее наиболее организованных формах невозможна, поскольку бескислородные биоэнергетические процессы дают в десятки раз меньше энергии. На клеточном уровне дыхание обеспечивают специальные органеллы — митохондрии. Именно в них вся подходящая органика «сгорает» до углекислого газа и воды, а энергию сгорания сложная ферментная система преобразует в энергию АТФ.

Однако далеко не весь потребляемый митохондриями кислород идет на клеточные нужды. Около 2—5% его превращается в так называемые активные формы (АФК), или свободные радикалы кислорода. Радикалы имеют отличные от молекулярного кислорода характеристики электронных облаков. Упрощенно говоря, неспаренные электроны АФК более склонны к образованию химических связей. Эти суперактивные частицы способны окислять почти все, с чем контактируют. Когда грибы прорастают через древесину и та становится черной и трухлявой, они фактически прожигают ее свободными радикалами. Достается от АФК и белкам, и нуклеиновым кислотам, и липидам. Свободные радикалы окисляют азотистые основания ДНК, после чего те становятся неузнаваемыми для работающих с ними ферментов. В клетке происходит путаница. Учащаются ошибки при удвоении ДНК, а следовательно, растет частота мутаций.

Действие АФК на мембраны запускает реакции перекисного окисления липидов, причем когда активированный кислород атакует одну молекулу, это вызывает цепную реакцию синтеза новых радикалов, которые, в свою очередь, поражают новые молекулы. С результатом этих реакций мы встречаемся, обнаруживая забытый в холодильнике кусок масла, покрытый желтым неаппетитным горьковатым слоем, — это и есть окисленные липиды. Собственно, когда мы замечаем отличия лица в зеркале от фотографии двадцатилетней давности, это тоже во многом результат перекисных процессов.

При окислении липидов, главной составной части мембран, образуется несколько вредных для клетки веществ. Они делают мембраны менее эластичными, мешают работе прикрепленных к ним ферментов, нарушают передачу сигналов и энергии. Одно из этих веществ называется малоновый диальдегид, или, сокращенно, МДА (хорошенько запомните это вещество — один из самых вредных продуктов окислительного стресса!). Он способен связываться со многими ферментами, делая их неактив-

ными, а также вызывать мутации и онкологические заболевания.

Больше всего достается от свободных радикалов кислорода митохондриям, и не только потому, что они главные потребители кислорода в клетке. Из-за своей сверхвысокой активности АФК живут очень недолго. Время существования большинства из них измеряется тысячными долями секунды, и свое вредоносное действие они проявляют неподалеку от места рождения, т.е. в митохондриях. Именно поэтому самые серьезные молекулярные проявления старения характерны для этих органелл. Например, частота мутаций в митохондриальной ДНК в несколько раз выше, чем в ядерной. Превышение некоего критического уровня окислительного повреждения митохондрий ведет к запуску генетической программы клеточной смерти — апоптоза.

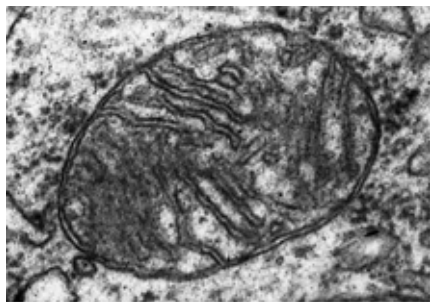
По мнению В.П.Скулачева, запрограммированная активация свободнорадикальных процессов, ведущая к гибели клеток, и есть основная причина старения целого организма. Для более точного обозначения этих процессов им был предложен специальный термин «феноптоз» — запрограммированная гибель организма, по аналогии с апоптозом — смертью клетки. (Тексты популярных статей В.П.Скулачева о кислороде и старении выложены на сайте <http://elementy.ru/lib/25551/25552>.)

В поисках инструмента

Если окисление биомолекул свободными радикалами кислорода — пусковой механизм старения, то, убирая эти частицы, его можно остановить. Еще в первой половине XX века химики умели синтезировать молекулы с заданными свойствами. Поэтому, когда роль АФК в кислородной патологии прояснилась, быстро появились эффективные «перехватчики». Создание искусственных антиоксидантов стало одной из любимых игрушек химиков-синтетиков. За последние 20—30 лет появились как универсальные молекулы, взаимодействующие со всеми типами АФК, так и «миметики», имитирующие активность ферментов каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) — ферментов, которые обезвреживают АФК, так что достаточная их активность теоретически могла бы решить проблему старения.

Синтетические антиоксиданты оказались замечательным инструментом для консервации липидов неживых объектов, например продуктов питания. Благодаря им удалось в несколько раз увеличить сроки хранения майонезов, спрэдов, шоколадок с арахисовой начинкой и т. д. (Специалисты в области пищевых технологий знают, что бактерии — не единственные враги свежести; если даже предотвратить рост микробов с помощью консервантов, вездесущий кислород превратит поверхность, а затем и весь объем незащищенного продукта в малоаппетитную прогорклую субстанцию.)

Вечный шоколадный батончик — это прекрасно, но вернемся к теме статьи — продлению жизни. К сожалению,



Электронная микрофотография митохондрии речного рака (хорошо видны две мембраны)

серьезных эффектов *in vivo* на живых организмах до сих пор получить не удалось. Выращивание нематоды (маленького червячка) со звучным названием *Caenorhabditis elegans* на среде с избытком СОД-миметика, маленькие молекулы которого свободно проникают в клетку, увеличивает продолжительность жизни на 50–60%, в то время как у той же нематоды есть мутации, дающие двукратное продление жизни, и примеров таких много. Что же мешает безвредным веществам, весьма эффективно защищающим от кислородной атаки майонез и маргарин, делать то же самое для клеток?

Причина, по-видимому, в том, что каждый организм настроен на определенный уровень окислительных процессов, который определяет множество жизненно важных свойств, в том числе и скорость старения. Ведь продолжительность жизни особой именно такая, какая нужна для процветания вида. Во всяком случае, это один из регуляторов плотности популяции, превышение которой чревато вспышками заболеваний и истощением кормовых ресурсов. Поэтому, когда мы вводим в живую систему «внешний» антиоксидант, клетки компенсируют это ослаблением своих внутренних защитных механизмов. Ситуация напоминает попытку дать ребенку горькое лекарство, которое всякий уважающий себя малыш старается выплюнуть. Хороший врач или заботливый родитель не будет кормить его насильно, вводя в еще больший стресс, а постарается обмануть, замаскировав лекарство чем-нибудь более аппетитным. И главным на сегодняшний день результатом проекта, выполняемого командой Скулачева, является то, что стало в общих чертах ясно, как «по-хорошему» накормить клетку антиоксидантами.

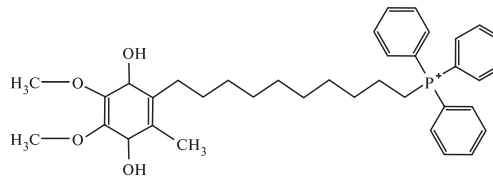
Ионы Скулачева — молекулярный спецназ

Работа дыхательной цепи митохондрий создает на их поверхности положительный заряд. Такой же заряд есть и на внешней поверхности клетки. Мембраны клеток и митохондрий представляют собой липидные пленки с вкрапленными в них «белковыми островами». Липиды, как известно, гидрофобны, поэтому положительно заряженные водорастворимые ионы хотя и стремятся внутрь клетки или митохондрии, но сделать это могут лишь в том случае, если клетка предоставит для этого специальный канал, обычно похожий на скрученную в трубочку белковую молекулу.

Идея, высказанная В.П.Скулачевым еще в 60-е годы, состояла в том, что гидрофобные (то есть имеющие сродство к липидам) положительно заряженные ионы (катионы) будут накапливаться сначала внутри клетки, а затем внутри митохондрии, независимо от «желания» клетки. Разность потенциалов между внутренней и внешней поверхностью внутренней мембраны митохондрии (напомним, что митохондрия — двухслойный мембранный мешочек) примерно в три раза выше, чем разность потенциалов на клеточной поверхности. Поэтому гидрофобные катионы будут стремиться в митохондрии, проходя через цитоплазму транзитом.

Эта идея была вскоре подтверждена экспериментами, и такие конструкции стали называть «ионами Скулачева». Главное полезное свойство этих ионов — способность быть электровозами, то есть доставлять внутрь митохондрии разнообразные молекулярные грузы. К органическому катиону, например трифенилфосфоню, при помощи линкера присоединяется какая-либо структура, которую нужно доставить внутрь митохондрии. Эта структура также должна быть гидрофобной. Если грузом будет краситель, то накопление всей конструкции в мито-

хондриях можно будет легко проконтролировать под микроскопом. Собственно, эти наблюдения и стали подтверждением как работоспособности ионов Скулачева, так и правоты хемиосмотической теории Митчелла (согласно этой теории, источником энергии для синтеза митохондриями АТФ служит ток протонов между внешней и внутренней сторонами внутренней мембраны митохондрии; избыток протонов на внешней стороне и создает положительный заряд). Интересно, что по принципу иона Скулачева работает и карнитин, образующийся в организме из ацетил-L-карнитина, одного из компонентов ле-



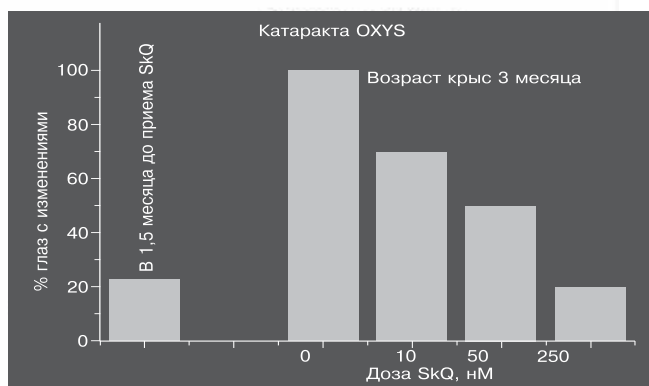
карства от старости, созданного Брюсом Эйсом. Этот органический катион протаскивает внутрь митохондрии остатки жирных кислот.

Нагрузить ион Скулачева антиоксидантом впервые предложили английский ученый Майкл Мерфи и его коллеги. Свою созданную в 2001 году конструкцию они назвали MitoQ (см. формулу). В данном случае к катиону прикреплен убихинон. MitoQ, который, как и положено веществу с такой структурой, хорошо накапливается в митохондриях. Его концентрация в матриксе этих органелл может быть в 10000 раз выше, чем во внеклеточном пространстве. Однако физиологически значимого антиоксидантного эффекта *in vivo* при помощи MitoQ до сих пор получить не удалось. Малые концентрации этого вещества неактивны, а большие токсичны. Продолжая аналогию с развитием авиации, MitoQ можно сравнить с самолетом Можайского. Наш талантливый соотечественник еще в 1885 году построил самолет с вполне приличной аэродинамикой. К сожалению, в качестве двигателя он был вынужден использовать паровую машину, что обрекло проект на неудачу.

«Паровая машина» конструкции, созданной Мерфи, — убихинон, который в определенных условиях из протектора легко превращается в прооксидант. Уже в начале XXI века В.П.Скулачев и его коллеги предложили несколько более эффективных заменителей убихинона. Получившийся в итоге класс молекул по рекомендации патентоведов было решено назвать SkQ, а отдельных представителей класса обозначать номерами.

К сожалению, до публикации результатов в научной печати я лишен возможности познакомить читателей «Химии и жизни» с формулами SkQ. Могу лишь сказать, что максимальные неактивные и минимальные токсичные концентрации веществ этой серии различаются примерно в тысячу раз. Другими словами, диапазон антиоксидантных концентраций SkQ значительно шире, чем у MitoQ, а это дает гораздо большую свободу в поиске благоприятных физиологических эффектов.

Механизм действия SkQ можно сравнить с антитеррористической тактикой специальных подразделений. В отличие от линейных частей, спецназовцы обучены передвигаться незаметно, небольшими группами, не тревожа без крайней нужды местное население, чтобы потом неожиданно сосредоточиться непосредственно в очаге терроризма. Так и SkQ, незаметно для клеточного метаболизма проходя через цитоплазму, концентрируются в митохондриях, где находятся основные очаги генерации свободных радикалов. Именно поэтому они действуют в нано- и фемтомольных концентрациях: на самом



Результаты опытов по предотвращению SkQ старческой катаракты крыс. Ученые использовали специальную линию (породу) крыс — OXYS, у которой значительно ослаблена антиоксидантная защита. Уже в три месяца у большинства этих крыс начинается старческая катаракта, однако введение SkQ в оптимальной дозе позволяет полностью остановить ее развитие. (Материалы предоставлены профессором Н.Г. Колосовой из Института цитологии и генетики СО РАН)

деле такие концентрации получаются в пересчете на весь объем клетки, а в матриксе митохондрий создается действующая микромолярная концентрация.

От теории к практике

Проекту компании «Митотехнология», главная цель которого состоит во внедрении ионов Скулачева в практику, всего два года. Начинаясь он с разработки методов синтеза и очистки SkQ, его количественного определения, оценки стабильности в разных растворителях. Поэтому на сегодня наиболее полно проведены исследования на клеточных и бесклеточных моделях. В этих опытах показано, что самые перспективные конструкции исправно пересекают различные мембраны, накапливаются в митохондриях, перехватывают образующиеся как в мембранах, так и в воде АФК, подавляют образование митохондриями перекиси водорода, образование МДА и останавливают начинающиеся в клетке процессы апоптоза.

Получены первые данные на животных. Нужно отметить, что руководству проекта удалось привлечь к его реализации лучших специалистов в самых разных областях экспериментальной биологии. Даже просто перечислить их всех в небольшой статье невозможно. Поэтому, несколько не умаляя вклада других ученых, скажу лишь, что опыты по влиянию SkQ на продолжительность жизни мышей проводятся под личным контролем президента Международной ассоциации геронтологии и гериатрии, главного редактора журнала «Успехи геронтологии», профессора В.Н. Анисимова. Эксперименты выполняются с соблюдением всех международно признанных правил геронтологических исследований. Количественные итоги таких опытов подводятся только после смерти последней мышки. Последние контрольные животные, не получавшие препарата, скончались еще в начале года. Некоторые из опытных животных живы до сих пор (я пишу эти строки в конце марта). Но пока не доживут до своего естественного конца последние участники последней серии опытов, результаты по продолжительности жизни профессор Анисимов считает предварительными. Тем не менее качественный эффект продления молодости (уже сейчас осторожно можно говорить о более чем двукратном эффекте), то есть состояния, когда жизнестойкость максимальна, а вероятность смерти от естественных



ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

причин минимальна, стабильно регистрируется во всех опытах. По-видимому, особенность SkQ по сравнению с другими геропротекторами состоит в том, что он продлевает молодость, а не растягивает старость.

Впечатляющие результаты получены при лечении у животных старческих заболеваний зрения. Одна из таких болезней, макулярная дистрофия сетчатки, оказалась особенно «отзывчивой» на введение капель с SkQ. Ветеринары отметили улучшение зрения у 80% животных, а из 56 полностью слепых собак, кошек и лошадей 46 частично прозрели. В числе последних и прославленный коллегами-журналистами мерин Машук, который как раз и страдал от макулярной дистрофии. О его выздоровлении написал даже журнал «Эксперт». Есть положительные результаты и при лечении других старческих недугов: катаркте, нарушениях иммунного ответа, возрастной утрате регулярных циклов у самок и полового влечения у самцов, инволюции тимуса, остеопорозе, поседении и облысении, а также при определенных типах рака.

Ионы Скулачева улучшают и характеристики, связанные с высшими когнитивными функциями, такими, как память, обучаемость и т. д., хотя эффектов, полученных для этих показателей Эймсом, пока достичь не удалось. Возможно, это связано с неудачным выбором исследованных доз или с неизвестными пока эффектами метаболитов SkQ. Напомню, однако, что биплан братьев Райт в 1903 году пролетел всего 260 метров. Тем не менее именно этот полет считается рождением авиации. И это, безусловно, справедливо, поскольку сама возможность полета крупных аппаратов тяжелее воздуха (более чужеродных для воздушной стихии, чем дирижабли) до того была далеко не очевидной. Братья Райт указали путь целой армии ученых и инженеров, создавших авиацию, и уже через 12 лет после их первого полета «нюпоры» и «спады» очистили небо Европы от цепелинов.

Антиоксиданты, созданные на основе ионов Скулачева, сконструированы как средство «внешнего» управления клеточным метаболизмом. Их дизайн определяет невиданную ранее эффективность действия. Все результаты, о которых говорилось выше, получены для доз, измеряемых наномолями на килограмм веса животного: улучшение зрения у стареющей собаки вызывает количество вещества, которое весит меньше, чем зубчик почтовой марки. Для всех известных на сегодняшний день природных и синтетических антиоксидантов, да и для большинства лекарств, эти дозы относятся к подпороговым (недействующим).

В общем, похоже, что, если технологии применения ионов Скулачева будут развиваться хотя бы в половину так же стремительно, как авиация, к середине XXI века старость станет делом свободного выбора.

