Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна»
Федерального медико-биологического агентства России

На правах рукописи

Алипер Александр Миронович

ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВАЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ СТАРЕНИИ И ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ, ПОИСК ГЕРО- И РАДИОПРОТЕКТОРОВ

03.01.01 – Радиобиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
д.б.н., профессор РАН Осипов Андреян Николаевич
Научный консультант:
к.ф.-м.н. Жаворонковс Александрс Александрович

Москва 2019

Оглавление

Список сокращений **2**

Введение **4**

Глава 1. Сравнение процессов старения и последствий воздействия ИИ на живые организмы - литературный обзор **9**

Глава 2. Основные методы и подходы, используемые в работе **26**

Глава 3. Результаты и обсуждение **35**

3.1. Активация сигнальных путей в процессе старения: фибробласты больных прогерией Хатчинсона-Гилфорда сопоставимы с клетками здоровых людей среднего и пожилого возраста **36**

3.2. Анализ данных генной экспрессии при воздействии ионизирующего излучения в малых и больших дозах: сравнение со старением **53**

3.3. В поисках геро- и радиопротекторов. **68**

3.3.1. В поисках геропротекторов: *in silico* скрининг и *in vitro* проверка соединений-миметиков молодого здорового клеточного состояния на уровне сигналома **70**

3.3.2. Базы данных geroprotectors.org и radioprotectors.org **84**

Выводы **104**

Список использованной литературы **106**

Приложение **138**

Список сокращений

АТФ	Аденозинтрифосфат
АФА	Активные формы азота
АФК	Активные формы кислорода
АЭС	Атомная электростанция
БД	База данных
ГЗ	Голый землекоп
ГО	Генная онтология
ГСК	Гемопоэтические стволовые клетки
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДЭ	Дифференциально экспрессированный
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ДР ДНК	Двунитевой разрыв ДНК
ИИ	Ионизирующее излучение
КПГ	Конечные продукты гликирования
ЛПЭ	Линейная передача энергии
ММШ	Многомерное шкалирование
мРНК	Матричная РНК
МСК	Мезенхимальные стволовые клетки
НАЦ	N-ацетил-L-цистеин
НДГК	Нордигидрогвайаретовая кислота
ОБЭ	Относительную биологическую эффективность
ОК	Ограничение калорий
ПЦР	Полимеразная цепная реакция

РНК	Рибонуклеиновая кислота
САП	Сила активации пути
СОД	Супероксиддисмутаза
СПХГ	Синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда
УФ	Ультрафиолетовое излучение
ХЛЛ	Хроническая лимфоцитарная лейкемия
цАМФ	Циклический аденозинмонофосфат
ЦНС	Центральная нервная система
АТ	Атаксия телеангиэктазия
ATM	Мутантный при атаксии-телеангиэктазии белок
FCS	Functional Class Scoring
FDA	Food and drug administration
GEO	Gene Expression Omnibus
ORA	Over-Representation Analysis или Enrichment Analysis
PT	Pathway Topology

Введение

Влияние ионизирующего излучения (ИИ) на продолжительность жизни активно изучалось с конца 1940-х годов до 1960-х годов [1,2]. Например, в работе Upton с соавт. [3] исследовалось ускоренное старение и сокращение продолжительности жизни у мышей, облученных нелетальной дозой гамма-лучей в результате ядерных взрывов. Главный вопрос, которым задавались авторы: каковы биологические основы влияния радиации на продолжительность жизни? Однако в то время ответить на него было сложно из-за нехватки доказательств связи радиации и старения: ИИ в основном вызывает повреждения генетического аппарата, влияет на активно делящиеся клетки, и индуцирует развитие злокачественных новообразований [4,5].

Какова цель изучения взаимосвязи эффектов облучения и процессов старения? Во-первых, эпидемиологические исследования людей, выживших после облучения в результате взрыва атомной бомбы, показало, что отдаленные последствия воздействия ИИ могут быть связаны с ускоренным развитием возраст-зависимых заболеваний. Во-вторых, в настоящее время были достигнуты успехи в понимании молекулярных биологических механизмов, связанных с эффектами воздействия радиации на организм и старением. В-третьих, поиск эффективных геро- и/или радиопротекторов - актуальная задача, ввиду схожести процессов старения и последствий облучения.

На данный момент существует несколько основных эволюционных гипотез старения:

а) накопление вредных соматических мутаций в неделящихся клетках и снижение способности к репарации ДНК [6,7];

б) антагонистическая плейотропия, когда в организме существуют плейотропные гены, имеющие разный эффект на выживание организмов на протяжении разных периодов жизни, то есть полезные в молодом возрасте, когда эффект естественного отбора сильный, и вредные позднее, когда эффект естественного отбора слабый [8];

в) одноразовая сома, предполагающая, что индивидуумы должны инвестировать жизнеобеспечение и репарацию своей сомы в соответствии со своими ожиданиями относительно будущей продолжительности жизни и возможностей для размножения [9,10].

Процессы, лежащие в основе этих гипотез и приводящие к старению, можно условно разделить на две группы: 1) накопление ошибок с течением времени; 2) программируемое

угасание функций организма [11]. И хотя сложно понять, что является причиной, а что следствием в процессе старения организма, возможные механизмы старения включают окислительный стресс, мутации в соматической ДНК и укорочение теломер.

Защита от активных форм кислорода, репарация ДНК и функциональная активность теломераз уменьшают вредный эффект от перечисленных выше процессов. Harman [12] в 1956 году сформулировал свободно-радикальную теорию старения, а позднее связал ее с образованием активных форм кислорода (АФК) в митохондриях [13]. Эта выдающаяся теория имеет особое значение для изучения эффектов облучения, поскольку при воздействии ИИ на клетки и организм происходит радиолиз воды с образованием свободных радикалов. Показано, что воздействие ИИ приводит к эффектам, схожим со старением, в т.ч. к соматическим мутациям, которые провоцируют разнообразные возраст-зависимые заболевания.

Анализ данных экспрессии генов является одним из наиболее всеобъемлющих подходов для определения первичного ответа клетки на стресс, в том числе и на ионизирующее излучение со старением. Таким образом, одно из новых, стремительно развивающихся направлений современной радиобиологии - анализ изменения транскриптома и сигналома клетки в ответ на облучение. В работе исследуются механизмы старения и клеточного отклика на воздействие ИИ, исследуются основные сигнальные пути, вовлеченные в оба процесса, а также способы их подавления или активации.

Цели и задачи исследования

Цель настоящей работы - разработать подход для поиска эффективных геро- и радиопротекторов, основанного на анализе профилей генной экспрессии клеток человека в процессе старения и в результате воздействия ИИ.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1) Изучить влияния процессов старения на профиль генной экспрессии клеток человека;
2) Изучить эффекты воздействия ИИ на профиль генной экспрессии клеток человека;
3) Определить и сравнить основные регуляторные сигнальные пути и ключевые гены, активируемые в процессе старения и при воздействии ИИ;
4) Разработать и экспериментально валидировать метод оценки потенциальной эффективности химических соединений для защиты и предотвращения последствий воздействия ИИ и процессов старения.

Научная новизна и практическая значимость работы

Настоящая диссертация посвящена исследованию процессов старения и последствий воздействия ИИ в клетках человека. Основным отличием данной работы от ранее опубликованных по сходным тематикам является использование методов полногеномного анализа данных экспрессии генов и анализа сигнальных путей. В работе рассмотрены такие процессы как влияние воздействия ИИ на здоровые клетки человека, изменение репаративной способности ДНК с возрастом, а также ускоренное старение (синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда (СПХГ)). Показано, что процессы старения и эффекты воздействия ИИ сходны между собой на уровне экспрессии генов и метаболических путей, следовательно, и протекторные (геро- и радио-) вещества, направленные на предотвращение или замедление процессов старения, могут иметь сходную химическую природу и функции.

Проведенные исследования по сравнению культур фибробластов, полученных от пациентов разных возрастов и больных с прогерией Хатчинсона-Гилфорда показали, что состояния активации путей передачи сигналов в клетках, полученных от молодых пациентов с СПХГ сходны с сигнальными путями, полученными от здоровых людей среднего и пожилого возраста. Таким образом были определены пути-мишени, на которые могут быть направлены новые лекарства и комбинации лекарственных средств как для лечения СПХГ, так и для предотвращения нормального старения.

Приведенный в работе биоинформатический анализ действия ИИ на клетки человека может стать основой для создания новых биоиндикаторов, чувствительных к ИИ в окружающей среде, в частности, для создания РНК-микрочипов или наборов для ПЦР. Было показано, что в ответ на воздействие ИИ активируются пути p53, ATM и MAPK, а также повышается экспрессия генов дифференцировки клеток и генов, участвующих в апоптозе и ответе на повреждение ДНК, что вызывает индукцию белков теплового шока и клеточного старения. Было впервые показано, что профиль генной экспрессии фибробластов, облученных в дозе 2 Гр, сходен с профилем репликативно состаренных фибробластов.

В диссертации описаны две вновь созданные открытые и курируемые базы данных (БД) геропротекторов и радиопротекторов с радиомитигаторами. При поиске геропротекторов был использован новый алгоритм GeroScope, который учитывает метаболический профиль “старых” и “молодых” клеток. Результаты поиска геропротекторов были валидированы

экспериментально на фибробластах человека *in vitro*. Поскольку процессы старения и последствия воздействия ИИ схожи, часть веществ из БД пересекается. Все активные молекулы классифицированы и могут быть отсортированы по химико-биологическим свойствам.

Положения, выносимые на защиту

1. Воздействие ИИ в дозе 2 Гр влияет на профиль генной экспрессии фибробластов кожи человека линии AG01522 : повышает экспрессию генов дифференцировки клеток и генов, участвующих в процессах апоптоза, ответе на повреждение ДНК и клеточного старения.
2. В процессе репликативного старения фибробластов человека экспрессия генов апоптоза, репарации ДНК испытывает устойчивую повышающую регуляцию, как и в фибробластах, облученных в дозе 2 Гр.
3. Разработанный алгоритм GeroScope позволил идентифицировать 10 веществ-геропротекторов, которые были протестированы на культурах фибробластов человека.
4. 26 радиомодификаторов вызывают существенные изменения транскриптомного профиля облученных клеток: данные гены отвечают за регуляцию клеточного цикла, ответ на внеклеточные сигналы, отрицательную регуляцию процессов жизнедеятельности клетки и ответа на внеклеточные стимулы, регуляцию программируемой клеточной смерти, в частности, апоптоза, ответ на уровень питательных веществ, клеточный ответ на стресс.
5. Вещества, обладающие геро-, радиопротекторными свойствами, часто проявляют аналогичные эффекты (например, выступают в качестве антиоксидантов), а также воздействуют на одни и те же сигнальные пути, например p53, MAPK, пути, связанные с репарацией ДНК, а также с развитием сенесцентности.

Личный вклад автора

Автором диссертации был проведен биоинформатический анализ образцов стареющих клеток и клеток, подвергшихся облучению. В рамках диссертации был разработан уникальный алгоритм GeroScope, а также собраны базы данных геро- и радиопротекторов.

Результаты настоящей диссертации были доложены на международных конференциях: VIII Российский симпозиум: “Биологические основы терапии онкологических и гематологических заболеваний”, Москва, 2013; Molmed-2013, Haikou, China, 2013; FEBS/EMBO Conference, Paris, 2014; MipTec Life Sciences Week, Basel, 2014, 2016; Basel Life Sciences Week, Basel, 2015, 2017, 2018; Международная конференция «Биомедицинские инновации для здорового долголетия», St. Petersburg, 2016; EMBL Stanford Conference: Personalised Health, Heidelberg, 2015; 256th ACS National Meeting & Exposition, Boston, 2018. По материалам диссертации опубликовано 6 статей в высокорейтинговых журналах, входящих в список ВАК, .

Структура диссертации

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, посвященному влиянию излучения и старения на живые организмы, методов и подходов, используемых в работе, результатов и обсуждения и выводов. Введение содержит описание целей и задач исследования, научную новизну, практическую значимость, положения, выносимые на защиту, а также описание личного вклада автора. В литературном обзоре, состоящем из 6 разделов, описываются различные последствия действия на организмы старения и ИИ, проводится их сравнение. В методах и подходах описаны основные способы анализа данных генной экспрессии и сигнальных путей, приведен список используемого программного обеспечения и баз данных. Раздел результаты и обсуждения разбит на три подраздела: в первом обсуждается влияние на экспрессионный ответ фибробластов репликативного старения, хронологического старения, а также СПХГ, во втором - сравнение действия ИИ и репликативного старения, в заключительной части обсуждаются пути, которые могут повлиять на развитие ответа клетки, а также вещества, которые могут выступать как протекторы. Далее следуют выводы, список литературы и приложение.

Глава 1. Сравнение процессов старения и последствий воздействия ИИ на живые организмы - литературный обзор

Эффекты воздействия ИИ в определенной степени аналогичны эффектам, наблюдаемым в наследуемых прогероидных синдромах и имеют сходства с преждевременным естественным старением. Сегментарные прогерии (дискератоз Конгенита, болезнь Вернера, синдром Блума и атаксия телеангиэктазия (АТ)) имеют лишь некоторые симптомы «ускоренного старения», в основном это уменьшение репаративной функции ДНК и повышение генетической нестабильности. Hofer с соавт. [14] предположил, что только некоторые прогерии с симптомами алопеции (облысение), остеопороза и атрофии ногтей связаны с укорочением теломер, но, например, при синдроме Блума укорочения теломер не наблюдается. Синдром АТ связан с дефектом в работе белка ATM (Ataxia-Telangiectasia Mutated), который позволяет клетке производить репарацию её ДНК до завершения клеточного деления. Если повреждение ДНК слишком тяжелое, ATM становится посредником в процессе запрограммированной гибели клеток (апоптоза), чтобы устранить пораженные клетки и предотвратить нестабильность генома [15]. Было показано, что животные, у которых отсутствует белок ATM, обладают низким уровнем гемопоэтических стволовых клеток [16]. В культурах фибробластов, полученных от радиочувствительных пациентов с АТ, анемией Фанкони и другими заболеваниями наблюдается ускоренное укорочение теломер при облучении (диапазон 1-7 Гр) [17] и высокий уровень репликативного старения (дозы порядка 2,5 Гр) [140]. Возможно, работникам, связанным с радиацией, необходимо делать генетические тесты, так как гетерозиготы по ATM, т.е. примерно 1% от общей популяции, чувствительны даже к незначительной дозе ИИ.

Подобно прогериям, высокие дозы ионизирующей радиации вызывают сегментарное старение. Болезнь Альцгеймера, инфекция *H. pylori*, диабет и артрит связаны с повышенным окислительным стрессом, как это было показано ранее [18]. Вполне ожидаемо, что воздействие ИИ на организм может увеличить риск развития возраст-зависимых заболеваний, поскольку оно вызывает окислительный стресс в клетках. Тем не менее, нет статистически достоверных различий по увеличению частоты возраст-зависимых заболеваний или изменению продолжительности жизни среди выживших после атомных бомбардировок, больных диабетом 2 типа (за исключением группы с высокой дозой облучения 2,3 ± 0,8 Гр),

инфекционными заболеваниями и деменции (включая болезнь Альцгеймера) [19,20]. Однако, высокодозная лучевая терапия головного мозга может приводить к когнитивным нарушениям и деменции [21]. Спектр спонтанных злокачественных новообразований в старости отличаются от тех заболеваний, которые вызваны ИИ. Но большинство видов рака, возникающих спонтанно, наблюдаются и у выживших после атомных бомбардировок, кроме следующих: хроническая лимфоцитарная лейкемия (ХЛЛ), рак поджелудочной железы, предстательной железы и матки [22,23]. Связь рака предстательной железы с радиационным воздействием у работников на ядерных объектах не существует или слаба [24]. Как правило, ХЛЛ считается ярким примером рака, который не связан с воздействием ИИ. Однако некоторые работы свидетельствуют о том, что у части облученных пациентов повышается вероятность возникновения ХЛЛ [25]. Вероятно, наиболее популярная теория старения связывает этот процесс с генерацией АФК и связанным с этим возникновением вредных и кумулятивных изменений в ДНК, липидах и белках [12]. Радиация является экзогенным источником АФК, а митохондрии можно считать эндогенным клеточным источником АФК. Однако недавние исследования показывают, что свободные радикалы, в частности, супероксидный анион, не могут быть причиной старения у некоторых видов, например, потеря у *C. elegans* ферментов антиоксидантной защиты не влияет на продолжительность жизни нематоды [26]. ИИ, особенно излучение с высокой ЛПЭ, производит значительно больше двухцепочечных разрывов, повреждений, связанных с сшивками биомакромолекул и вызывающих геномную нестабильность, чем эндогенные источники АФК, тем самым ускоряя клеточное старение, включая старение стволовых клеток [27]. Однако в этом процессе также могут играть роль и такие факторы, как апоптоз и воспаление. ИИ не только наносит урон непосредственно клеткам, но и вызывает тканевые эффекты.

В статье Rando [28] обсуждается связь между старением и стволовыми клетками, а именно: а) способность опухолевого супрессора p16INK4a ослаблять самообновление стволовых клеток; б) дефекты в репарации ДНК стволовых клеток у людей, страдающих прогерией; в) негативное влияние и свойства раковых стволовых клеток и г) истощение пула стволовых клеток, т.е. снижение Т-клеток и В-клеток и развитие иммунодефицита. Однако дегенеративные эффекты, вызванные излучением или старением, связаны с ускоренным апоптозом постмитотических клеток, таких как нейроны и скелетные мышцы.

Можно ли определить старение путем конкретных измерений биологических, биохимических или физиологических параметров? На сегодняшний день ограничение калорий

(ОК) в рационе является наиболее исследованным способом продления жизни. Снижение количества питательных веществ, по-видимому, ингибирует чувствительный к инсулину сигнальный путь mTOR [29], тогда как ожирение наоборот активирует его: может развиться метаболический синдром, диабет, атеросклероз и деменция. ОК, по-видимому, замедляет старение и увеличивает средний и максимальный срок жизни, уменьшая производство свободных радикалов и окислительное повреждение ДНК [30]. Однако эти положительные эффекты сопровождаются более низкой массой тела и пониженной температурой [31]. В то время как ОК уменьшает риск канцерогенеза за счет удлинения латентного периода, ИИ действует совершенно противоположным образом, способствуя развитию рака и уменьшая его латентный период [32].

1.1. Заболевания, развивающиеся после воздействия ИИ

Основным последствием старения является экспоненциальное увеличение показателей заболеваемости и смертности опухолевых и неопухолевых заболеваний, а также постепенное увеличение уровня дегенерации тканей, приводящее в конечном итоге к атрофии. Эпидемиологические исследования показывают связь между ИИ и большинством форм рака, а также некоторых нераковых заболеваний. Риск развития онко- и сердечно-сосудистых заболеваний, деменции и диабета второго типа повышается в старости, что, как правило, приводит к уменьшению продолжительности жизни. Возникновение солидных (твердых) опухолей у пациентов, пострадавших после взрывов атомных бомб, в основном зависит от возраста, а не от возраста во время облучения и времени прошедшего после воздействия [33]. Данные о выживших после облучения важны для разработки методов радиационной защиты. Выжившие, как правило, испытывали острое облучение в относительно низких дозах, причем более 60% получали дозы менее 100 мГр [34]. Для человеческого организма существует статистически значимая линейная зависимость риска возникновения рака от дозы облучения в диапазоне до 3 Гр [22,35]. Коэффициенты риска смертности от лейкемии, нераковых заболеваний и солидных раковых опухолей составляют около 0,7, 3,0 и 4,8% на 1 Гр после облучения при низкой мощности дозы по данным международной комиссии по радиологической защите [36].

Также ранее была выявлена связь между ИИ и возникновением сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов, которые подвергались лучевой терапии [37]. Изучена смертность

людей, выживших после атомных бомб в период 1950-1997 гг. Для широкого спектра заболеваний сердца, инсультов, заболеваний пищеварительной системы и респираторных заболеваний была доказана связь ответной реакции организма на дозу, превышающую 500 мГр [22]. Кроме того, было обнаружено, что патологические эффекты, предшествующие этим заболеваниям (высокое кровяное давление, высокий уровень холестерина в сыворотке), также связаны с облучением, причем в большей степени у женщин, чем у мужчин [38,39].

Формирование радиационно-индуцированной катаракты считается классическим поздним детерминированным эффектом с определенным порогом дозы, при котором тяжесть заболевания увеличивается с дозой. Neriishi с соавт. [40] провел офтальмологические исследования населения, выжившего через 55 лет после японских атомных взрывов. У пациентов наблюдался низкий или отсутствующий порог дозы для радиационно-индуцированной катаракты. Аналогичным образом, предварительные исследования показали либо более ранний возраст начала, либо более высокую распространенность старческой катаракты у экипажей самолетов и космонавтов, подвергшихся воздействию космического излучения [41]. По данным международного комитета по радиационной защите появление радиационно-индуцированной катаракты связано с минимальным порогом дозы от 0,5 до 2,0 Гр при остром облучении и 5,0 Гр при фракционированном или длительном воздействии [36].

В настоящее время появляются свидетельства того, что степень повреждения иммунной системы людей, выживших после атомных бомбардировок в 1945 году была пропорциональна дозе ИИ, которому подвергались люди во время ядерных взрывов [42]. Было обнаружено, что снижающийся пул Т-клеток ассоциирован как с облучением, так и со старением [43]. Kusunoki и Hayashi [42] предположили, что действие радиации ускоряет естественные процессы, связанные со старением иммунной системы. Nagataki с соавт. [44] были первыми, кто показал значительное увеличение аутоиммунного гипотиреоза, связанного с повышением уровня антител, среди выживших после атомной бомбардировки. В более поздних исследованиях у пациентов, выживших после ядерных взрывов (через 55-58 лет после облучения), были обнаружены избыточные злокачественные и доброкачественные узлы щитовидной железы, которые однако не привели к аутоиммунным заболеваниям щитовидной железы [45]. При наличии вируса гепатита С ИИ может усилить развитие различных заболеваний печени, а также приводить к раку печени [46,47]. Общая заболеваемость инфекционными, мочевыми и

пневмоническими заболеваниями существенно не коррелирует с дозой облучения у выживших после атомных бомбардировок, хотя некоторые корреляции иногда наблюдаются [23,48].

У выживших после облучения в результате взрывов атомных бомб пациентов не наблюдается статистически достоверная повышенная смертность от некоторых распространенных возрастных заболеваний, таких как диабет второго типа, инфекционные заболевания и болезнь Альцгеймера [22]. Этот результат является неожиданным, так как развитие инфекционных заболеваний и болезни Альцгеймера связаны с окислительным стрессом и воспалением, являющимися одними из эффектов облучения. Собранные данные о пациентах после атомных бомбардировок в основном касаются причин смерти или статистики, связанной с заболеваемостью раком, однако информации о том, с какими нераковыми заболеваниями связано воздействие ИИ, довольно мало. Так, например, нет данных о развитии остеопороза у выживших после атомных взрывов [49].

Strehler [4] отмечает, что ряд функциональных возможностей человека и физиологических параметров, например, скорость клубочковой фильтрации и максимальная емкость легких, падает на 5%-13% за десять лет для людей старше 30 лет. Потеря эластичности кожи - это еще один физиологический фактор старения, но для пациентов, перенесших высокодозную лучевую терапию, она предшествует обширной эритеме [50]. Исследования Hollingsworth с соавт. [51] не показали раннего поседения, потери эластичности кожи (физиологических маркеров старения) после облучения, хотя позже эти результаты были опровергнуты [52,53].

1.2. Окислительный стресс, антиоксиданты и воспаление.

Активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА) являются основными источниками повреждения макромолекул клетки (Рис. 1.2.1). Ионизирующее излучение приводит к генерации АФК и АФА в присутствии кислорода и азота. К АФК относят супероксидный анион (O_2•-), перекись водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал (OH•). Активные формы азота - это оксид азота (NO•) и пероксинитрит (ONOO-). АФК генерируются, например, нейтрофилами и макрофагами при воспалении, а также и в процессе клеточного дыхания [54]. АФК и АФА атакуют макромолекулы, вызывая окислительный стресс, процесс, связанный с этиологией многих заболеваний и способствующий старению [55]. Увеличение эндогенного клеточного уровня АФК приводит к повышению окислительного повреждения

ДНК и образованию 8-гидроксидеоксигуанозина (8-оксо-dG) [56]. При этом уровень повреждения митохондриальный ДНК (8-оксо-dG) в 16 раз выше, чем ядерной, это в свою очередь, приводит к ускорению процессов старения организма [57].

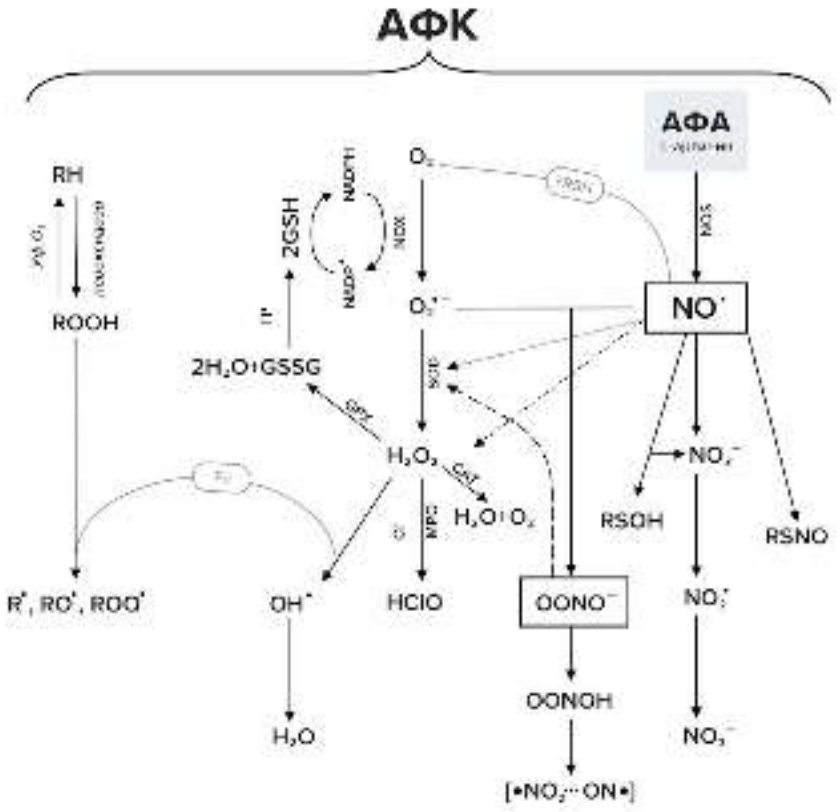

Рисунок 1.2.1. Схема участия NO в процессах свободнорадикального окисления: -----→ – ингибирование; •••••••→ – активация; NO•– – оксид азота; O_2 •– – пероксид; Fe – железо; ROOH – липидные перекиси; H_2O_2 – перекись водорода; R•, RO•, ROO• – липидные радикалы; NOS – синтазы окиси азота; ONOO– – пероксинитрит; NOX – НАДФНоксидазы; SOD – супероксиддисмутаза; CAT – каталаза; Cl– – хлорид-ион; MPO – миелопероксидазы; HClO – гипохлорная кислота; OH• – гидроксильный радикал; УФ – ультрафиолетовое излучение; NO– – нитроксильный анион; NO+ – катион нитрозония; NO_2• – диоксид азота; NO_2– – нитрит анион; NO_3– – нитрат анион; ГР – глутатионредуктаза; GSSG – глутатион окисленный; GSH – глутатион восстановленный; RSNO – нитрозотиол. Из [58].

Общепризнанно, что способность защищаться от АФК снижается с возрастом, однако результаты исследований на человеке и животных несколько разнятся. Уровни глутатиона (природный антиоксидант) в крови, измеренные у здоровых стареющих взрослых в возрасте

от 60 до 79 лет, были на 17% ниже, чем у людей на 40 лет моложе [59]. В фибробластах кожи человека отрицательный эффект от воздействия АФК увеличивается в пожилом возрасте за счет снижения уровней антиоксидантных ферментов, таких как глутатионпероксидаза, Cu/Zn супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза [56]. Также наблюдается снижение уровня митохондриальной марганец-содержащей СОД у людей старше 65 лет. Тем не менее, подробные исследования на животных показывают, что изменение уровня антиоксидантных ферментов с возрастом зависят от анализируемой ткани или типа клеток [60,61]. Уровни антиоксидантов могут повышаться у пожилых людей в ответ на более “агрессивную” атаку окислителей в стареющих тканях/органеллах, требующих более высокого уровня защиты от антиоксидантов.

Окислительный стресс в пожилом возрасте приводит к модификации липидов, белков и ядерной ДНК [62–64]. Показано, что у людей существует положительная связь между возрастом и перекисным окислением липидов мембран [65]. Было также доказано, что уровень окислительного повреждения белков с возрастом экспоненциально увеличивается [66]. Конечные продукты гликирования (КПГ), способствующие сшивке белков, обнаруженны при катаракте, атеросклерозе и болезни Альцгеймера. Генерация АФК, мутации в соматической ДНК, и генетическая нестабильность - это факторы, которые могут быть в том числе индуцированы ИИ, а также связаны с патогенезом атеросклероза [67].

ИИ может способствовать ускорению старения в тканях: увеличивать уровень воспаления и фиброза, которые, в свою очередь, влияют на развитие атеросклероза и артрита. Стареющие (или сенесцентные) фибробласты секретируют провоспалительные цитокины: TNF-α, интерлейкин-1β (IL-1β) и IL-6, высокие уровни которых обнаружены в клетках здоровых пожилых людей [68]. После облучения гамма-лучами в высокой дозе (10 Гр) человеческие эндотелиальные клетки *in vitro* продуцировали повышенные уровни IL-6 и IL-8 (но не TNF-α) [69]. Кроме того, маркеры воспаления (TNF-α, IL-6 и IL-10) значительно увеличиваются с повышением дозы облучения, а также с возрастом у пациентов, выживших после взрывов атомных бомб [70,71]. Ускоренный апоптоз, воспаление, фиброз и более медленное заживление поврежденных тканей являются признаками не только старения, но и результатом облучения [72].

ИИ и воспалительный ответ связаны с повышенными уровнями АФК в тканях. Heissig с соавт. [73] показали, что облучение мышей дозой 2 Гр способствует увеличению уровня тучных клеток и реваскуляризации тканей. В брюшной полости крыс, облученных высокой

дозой (20 Гр), повышался уровень нейтрофилов в облученных тканях в начале воспалительного ответа [74]. Следовательно, ИИ может быть косвенным источником АФК и последующим повреждением тканей, из-за фагоцитарных нейтрофилов, производящих свободные радикалы для нейтрализации микроорганизмов или вирусных частиц. Однако показано, что при локальном воздействии рентгеновского излучения (1-6 Гр) во время радиотерапии может вызываться противоположный эффект, и повышаться иммунитет и противовоспалительная активность [75]. Это объясняется тем, что при локальном облучении нормальные клетки организма получают относительно небольшую дозу или вообще не облучаются и воздействие происходит по механизму байстандер эффекта с индукцией адаптивного ответа [76,77].

1.3. Апоптоз, генетическая нестабильность и мутации в ДНК

Этот раздел обзора посвящен явлению апоптоза и накоплению вредных соматических мутаций в ДНК в процессе старения и в результате воздействия ИИ (Рис. 1.3.1). Ген *TP53* в нормальных клетках контролирует клеточный цикл, предотвращая деление клеток с поврежденной ДНК, активируя восстановление ДНК или инициируя гибель клеток. Не подлежащая восстановлению ДНК может привести к генетической нестабильности и в конечном счете к развитию злокачественных новообразований. Нарушения в сигнальном пути белка p53 важны, так как они наблюдаются в более чем 80% всех случаев рака человека.

Было показано, что белок-супрессор опухолей p53 участвует в регуляции долголетия и старения [78]. p53 повышает выживаемость в молодом возрасте, уменьшая связанный со старением окислительный стресс и предотвращая развитие раковых клеток [79]. У японцев, переживших атомные бомбардировки, наблюдается линейная зависимость развития солидных опухолей от дозы радиации (в диапазоне до 3 Гр), однако при более высоких дозах частота злокачественной трансформации значительно снижается из-за клеточной гибели [35]. С другой стороны, есть данные, что p53, по-видимому, может уменьшать продолжительность жизни, предотвращая обновление стволовых клеток [80] и увеличивая спонтанный апоптоз в

Рисунок 1.3.1. Последствия действия ИИ на клетку. Действие ИИ на ДНК клетки: прямое и опосредованное. Опосредованное повреждение происходит через радиационно-связанное образование свободных радикалов. Двухцепочечные (или двунитевые) разрывы ДНК (ДР ДНК) являются наиболее опасной формой повреждения ДНК, связанной с ионизирующим излучением. После возникновения ДР ДНК запускается каскад ферментативных процессов для обеспечения репарации ДНК или индукции апоптоза. Этот процесс включает в себя активацию белка p53 и индукцию остановки клеточного цикла. Если повреждение превышает способность клетки к самовосстановлению, произойдет гибель клетки. Существует два канонических механизма репарации ДР ДНК: негомологичная и гомологичная рекомбинация. При гомологичной рекомбинации ферменты BRCA1 и BRCA2 активируются и инициируют репарацию. Если восстановление прошло успешно, клеточный цикл может возобновиться. Если репарация ДР ДНК не удалась, клетка, может, подвергнуться клеточной гибели. Важно отметить, что сбой процессов в регуляции клеточного цикла или пути клеточной гибели может привести к канцерогенной трансформации. В негомологичной рекомбинации, как следует из названия, негомологичные концы соединяются вместе, чтобы “смягчить эффект” от повреждения ДНК. Это может привести к значительным мутациям в регуляции клеточного цикла и привести к канцерогенной трансформации клетки. Согласно [81].

стареющих постмитотических тканях [82,83]. Например, было показано [83], что апоптоз мышечных клеток при саркопении и потери нейронов при неврологических расстройствах связаны, как правило, с нераковыми заболеваниями, которые в конце концов могут приводить к смерти пожилого человека.

В экспериментах на мышах Feng с соавт. [84] показали, что активность p53 в ответ на гамма-излучение (5 Гр) уменьшается у людей в пожилом возрасте. С возрастом апоптоз, вызванный p53, развитие сенесцентности клеток, и аутофагия уменьшаются [85], накопление повреждений в клетках происходит не только из-за снижения эффективности репарации ДНК, но и из-за менее эффективного “удаления” поврежденных белков, ДНК и органелл у пожилых людей, что может быть фактором экспоненциального роста спонтанных новообразований у пожилых людей [2,86].

У раковых клеток генетический материал отличается от нормальных, а хромосомные мутации происходят чаще, особенно в гене *TP53 [87]*. Известно, что наиболее вероятным механизмом возникновения рака после облучения является генерация множественных повреждений ДНК, а не инактивация определенного гена-супрессора опухоли [36]. Рак печени является наиболее распространенным раком пациентов, подвергнутых воздействию альфа-частиц, одной из форм излучения с высокой линейной передачей энергии. Анализ точечных мутаций в *TP53* и потери гетерозиготности в локусе 17p проводили на опухолях печени в статье Ishikawa с соавт. [88]. Потеря гетерозиготности из-за делеций после прямого действия альфа-частиц, была нечастой, тогда как точечные мутации, связанные с косвенными “генами старения”, были более распространены.

Как стабильные (транслокации, делеции и вставки), так и менее стабильные (дицентрик и фрагментирование) хромосомные мутации спонтанно накапливаются с возрастом, например, спонтанные мутации в гене *HPRT*, экспоненциально возрастают с возрастом в эпителии почек человека [89]. Vorobtsova с соавт. [90] изучали три группы людей: контрольную и две облученные популяции в возрасте от 3 до 72 лет. У людей, подвергшихся воздействию низких доз ИИ, полученных в результате аварии на Чернобыльской АЭС и после атомной бомбардировки, были ускорено возрастное увеличение количество стабильных мутаций, но не нестабильных (исследования проводились на лимфоцитах). Транслокации в хромосомах увеличивались с квадратом возраста людей как в контрольной, так и в облученной группах. Количественное определение дицентриков в культивируемых периферических лимфоцитах при первом митозе является предпочтительным «биологическим дозиметром» для

обнаружения повреждений после радиационных воздействий [91–93]. Хотя в возрастных зависимостях по выявлению дицентриков существует несогласованность [94], некоторые исследования, в том числе исследование Ramsey с соавт. [95], показывают возрастающую частоту таких аберраций с возрастом.

Неустойчивость генома может быть количественно определена. Преобладающая точка зрения в настоящее время заключается в том, что радиационная или спонтанно-индуцированная геномная неустойчивость играет важную роль в канцерогенезе и снижении уровня функциональности тканей при старении [96]. Имеются достоверные свидетельства того, что альфа-излучатели с высокой линейной передачей энергии, например, плутоний и торотраст (ThO_2), являются причиной геномной нестабильности через инактивацию репарации ДНК [97,98]. Однако излучение с низкой линейной передачей энергии (гамма-излучение) не имеет такого же эффекта [97], т.к. клонированные Т-лимфоциты у выживших после атомных бомбардировок людей не обнаруживают хромосомной нестабильности [98,99].

Митохондриальные ферменты дыхательной цепи чувствительны к действию перекиси водорода (H_2O_2), которая образуются в результате разрушения супероксидного аниона ферментом СОД, что в конечном итоге может привести к одно- или двухцепочечному (реже) разрыву молекулы ДНК [100]. Суточная продукция АФК (~90% приходится на дыхание [13]) в клетках млекопитающих велика, но и репарация митохондриальной и ядерной ДНК происходит непрерывно [101,102]. Ежедневно около 10200-12100 оснований ДНК повреждаются: они оказываются депуринированы, окислены или дезаминированы [35]. Для сравнения, в течении 5,5 лет облучения за счет естественного фона, образуется только 2,5-5 поврежденных оснований, 2,5-5,0 одиночных разрывов и примерно 0,25 двухцепочечных разрывов. ИИ производит больше двухцепочечных разрывов, чем эндогенная H_2O_2, и именно они играют важную роль процессе старения [103]. Кроме того, излучение с высоким ЛПЭ, таким как альфа-частицы, создает кластерные повреждения, которые сложнее восстановить, по сравнению с рентгеновскими и гамма-лучами с низким ЛПЭ [104].

Репарация позволяет исправить большую часть повреждений ДНК [105]. Снижение репаративной способности с возрастом было продемонстрировано после УФ-облучения человеческих дермальных фибробластов [106]. Для гамма-лучей ^{137}Cs, белки контрольных точек клеточного цикла экспрессировались после облучения дрожжей высокой дозой (200 Гр) [107], однако это воздействие не вызывало экспрессии ферментов репарации ДНК в выживших

клетках. Обнаруженные двухцепочечные разрывы локализованы в фокусах *γ-H2AX* и/или *53BP1*, они накапливаются в различных тканях облученных или стареющих мышей и приматов, вероятно, приводят к старению [108,109]. Ошибки в репарации двухцепочечных разрывов могут привести к генетической нестабильности, развитию рака, возрастной дегенерации в различных тканях. Таким образом, как ИИ, так и процессы старения вызывают увеличение количества повреждений ДНК, однако уменьшение эффективности репарации ДНК и индукция нестабильности генома являются скорее следствием старения и воздействия ИИ в больших дозах.

1.4. Роль теломер в стрессе и репликативном старении

Hayflick и Moorhead [110] в своих исследованиях показали, что фибробласты *in vitro* имели ограниченный срок жизни, и это вероятнее всего, связано с тем, что количество делений клетки ограничено. Для объяснения этого явления Harley [111] предложил теломерную гипотезу старения, согласно которой, несмотря на экспрессию теломеразы, повторяющиеся участки ДНК в конце хромосом укорачивается с возрастом, как это наблюдается в фибробластах, лимфоцитах и гемопоэтических стволовых клетках (ГСК) [112]. Фермент теломераза может добавлять специфические повторяющиеся последовательности ДНК, которые “теряются” при делении клеток. Роль теломер в клеточном старении изначально рассматривается как заранее запрограммированные “митотические часы” клетки. Альтернативная позиция заключается в том, что окислительный стресс ускоряет укорачивание теломер и индуцирует репликативное старение (необратимую остановку деления клеток) как плейотропный признак в ответ на риск мутации [113,114].

Стресс-зависимое или возраст-зависимое укорачивание теломер может приводить к нестабильности генома и резкому увеличению частоты мутаций. Описанная двойственность подпитывает споры о том, является ли сокращение теломер причиной старения в сочетании с другими механизмами или же просто следствием. Ранее сообщалось, что теломеры укорачиваются в клетках печени, почечной коры, селезенки и слизистой оболочке пищеварительного тракта (но не в коре головного мозга и миокарде) человека начиная с новорожденного возраста [115]. Cawthon с соавт. [116] показали, что среди здоровых людей в возрасте 60 лет и старше с более короткими теломерами в клетках крови более высокая смертность, в частности, от болезней сердца (в 3,2 раза) и инфекционных заболеваний (в 8,5

раза). В исследовании Epel с соавт. [117] подтверждается гипотеза о том, что укороченные теломеры и скорость их укорачивания могут способствовать смертности от возрастных заболеваний, например, сердечно-сосудистых заболеваний [118]. Однако сомнения относительно роли теломер в старении возникли в исследовании Martin-Ruiz с соавт. [119], в котором измерялась длина теломер в белых кровяных клетках и не было найдено никакой связи со смертностью для тех людей старше 85 лет. С другой стороны, большинство пациентов с врожденным дискератозом имеют дефект гена *DKC1*, который влияет на поддержание длины теломер, а мутации в нем приводят к аномально коротким теломерам. Это заболевание имеет признаки, схожие с признаками преждевременного старения, так как пациенты часто страдают ранним раком, но в основном умирают молодыми (средний возраст 16 лет) от костномозговой недостаточности [120].

Об изменении длины теломер, вызванном ИИ, имеется мало информации. Hande с соавт. [121] облучали рентгеновскими лучами первичные клетки мыши (спленоциты) и обнаружили повышенную теломеразную активность и удлиненные теломеры, которые, возможно, участвуют в “заживлении хромосом”. Sgura с соавт. [122] сообщили об облучении фибробластов человека и обнаружили отсутствие различий в длине теломер после облучения низкими дозами, тогда как высокие дозы вызывали значительное увеличение длины теломер. Goytisolo с соавт. [123] проводили эксперименты с использованием генно-инженерных клеточных линий, полученных от теломеразодефицитных мышей с теломерами на 40% короче, чем у мышей дикого типа. Результаты их исследования на животных, которые позднее были подтверждены на фибробластах человека [124], показали, что короткие теломеры увеличивают чувствительность к радиации. Аналогичный результат наблюдался у больных после лучевой терапии, у пациентов с более короткими теломерами рак чаще развивался повторно [125]. Тем не менее, при сравнении длины теломер до и через 5 лет после лечения существенных изменений в длине теломер не наблюдалось. Таким образом, имеющиеся отрывочные данные в основном отрицают теорию радиационно-опосредованного укорачивания теломер.

1.5. Стволовые клетки, старение костного мозга и индукция гемопоэтических новообразований

Существует два основных типа мультипотентных стволовых клеток, обнаруженных в костном мозге, это во-первых, ГСК, которые производят клетки крови, во-вторых,

мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые обычно формируют костную ткань (из остеобластов), хрящи, жир и клетки стромы. ГСК и, возможно, МСК часто встречаются в среде с низким содержанием кислорода в эндостальном слое костного мозга для защиты от неблагоприятных факторов а также для сохранения их способности к репопуляции костного мозга [125,126]. Рак можно рассматривать как заболевание стволовых клеток: эта концепция наиболее хорошо подтверждена для лейкемии, но есть все больше доказательств, подтверждающих иерархическую организацию клеток также в различных солидных раках [127].

Установлено, что низкое давление кислорода увеличивает продолжительность жизни и ослабляет дифференцировку ГСК [128]. Показано, что стволовые/раковые стволовые клетки, находящиеся в гипоксических “нишах”, а также центральная часть опухолевой массы менее подвержены повреждению АФК вследствие "кислородного эффекта", независимо от того, является ли АФК источником эндогенного митохондриального дыхания или экзогенной лучевой терапии [129]. И наоборот, стволовые клетки, занимающие хорошо насыщенную кислородом сосудистую “нишу” или проходящие ангиогенез/ремоделирование костей, более чувствительны к радиационно-индуцированному раку и репликативному старению [130].

По мере старения кроветворной системы организма ухудшается ее иммунная функция, уменьшается лимфоидный потенциал, увеличивается частота возникновения миелолейкоза [131]. Старение приводит к увеличению дисфункции стволовых клеток, и лейкоз может развиться при неудачных попытках костного мозга вернуться в гомеостатическое состояние после стресса или травмы. ГСК у пожилых мышей демонстрируют такие свойства как снижение количества предшественников на клетку, снижение уровня самообновления и усиление апоптоза при стрессе [132]. Остальные стволовые клетки делятся быстрее, как бы компенсируя потерянные. Стимулирование быстрого роста старых стволовых клеток, возможно, в результате стресса, такого как ИИ, повышает риск превращения стволовых клеток в раковые из-за повреждения ДНК.

Метаболически активные стареющие (сенесцентные) клетки, идентифицированные биомаркерами клеточного старения *γ-H2AX* и ферментом *β*-галактозидазой (SA-β-gal), накапливаются в тканях стареющих приматов [108]. Клеточное старение может быть вызвано одним из двух способов. Во-первых, АФК могут способствовать появлению множественных одно- и двухцепочечных разрывов, присутствующим в стареющих клетках, и это форма теломер-независимого стресс-индуцированного старения. В качестве альтернативы, второй

путь старения - теломер-зависимое укорочение ДНК и возникновение репликативного старения. Считается, что окислительный стресс является более вероятной причиной старения ГСК, чем укорачивание теломер [133]. Действие высоких сублетальных доз ИИ (6,5 Гр) приводит к апоптозу ГСК, а более низкие - к старению ГСК и потере способности делиться [134]. Кроме того, облученные нормальные фибробласты человека и линии опухолевых клеток также могут терять способность к делению и подвергаться ускоренному старению [135]. Ингибирование роста опухоли при клеточном старении индуцируется онкогеном и связано с увеличением экспрессии генов-супрессоров опухолей *p16INK4a* и *TP53* через повреждение ДНК [136]. Недавние исследования показали, что белок p16INK4a, является важным биомаркером старения, так как его концентрации в периферической крови экспоненциально возрастает с хронологическим возрастом [137]. Ранее в исследовании было показано, что определенная доза радиации газа радона среди урановых шахтеров положительно связана с инактивацией генов *p16INK4a* и *O6-methylguanine-DNA* метилтрансферазы в мокроте, что, возможно, указывает на раннее повреждение ДНК и большую восприимчивость к раку легких [138].

Количество и способность к делению у популяций стволовых клеток, например, кишечной крипты и мышц, уменьшаются с возрастом, это приводит к прогрессирующему ухудшению тканевого и органного обновлению и снижению функции [139,140]. Повреждения макромолекул накапливаются в ГСК с возрастом [141]. Снижение способности к репарации двунитевых разрывов ДНК приводит к потере ГСК и снижению количества клеток костного мозга при старении [142] и, возможно, при облучении происходит так же. Количество клеток костного мозга обусловлено не только нормальным старением, но и высокой дозой облучения костей (>12,5 Гр) ^{45}Ca бета-излучателем [143]. Многие болезни крови, включая анемию и миелодиспластический синдром (предшественник острого миелолейкоза), являются наиболее распространенными нераковыми заболеваниями у выживших после атомных бомбардировок. Облучение костного мозга может оказать неблагоприятное влияние на развитие костной ткани. Например, мыши, подвергшиеся воздействию гамма-лучей и других видов космической радиации, потеряли значительные объемы трабекулярной кости в диапазоне от 29% до 39% при дозе облучения 2 Гр. Это свидетельствует о том, что потеря костной ткани у астронавтов из-за снижения гравитации может дополнительно усугубляться космической радиацией.

Остеосаркома является наиболее распространенной формой спонтанного и радиационно-индуцированного рака костей в популяции, и особенно распространена у детей.

У женщин из США, подвергшиеся воздействию ^{226}Ra-^{228}Ra в возрасте 20±5 лет, саркомы костей появились в среднем через 27±14 лет [144]. При облучении в малых дозах радиационно-индуцированный эффект старения и снижение латентного периода невелики. Очевидно, что рак не может быть зарегистрирован у людей, у которых латентный период больше, чем продолжительность жизни. У пациентов, получавших препарат содержащий ^{224}Ra от туберкулеза и других заболеваний, частота развития костной саркомы была заметно выше, и примерно в 14 раз больше у детей в возрасте от 1 до 5 лет по сравнению со взрослыми старше 20 лет [145]. Таким образом, облучение скелетной ткани альфа-частицами (в большей степени, чем гамма/бета-радиация), вызывает преждевременное старение костного мозга; это, вероятно, происходит за счет гибели стволовых клеток, увеличения мутаций в ДНК, и, возможно, из-за репликативного старения оставшихся стволовых клеток.

1.6. Увеличение и уменьшение продолжительности жизни.

На сегодняшний день существует довольно мало исследований, касающихся влияния малых доз радиации на продолжительность жизни животных и тем более людей. Установлено, что у мышей, восприимчивых к развитию лимфомы и лейкоза после относительно коротких латентных периодов после облучения, уменьшается продолжительность жизни. Уменьшение продолжительности жизни, связанное с воздействием радиации, происходит в меньшей степени у людей и некоторых животных, например, собак, так как они чаще подвержены развитию солидных опухолей с более длительными латентными периодами. Средняя продолжительность жизни мышей увеличивалась приблизительно на 23%, когда Caratero с соавт. [146] подвергали их непрерывному гамма-облучению в 70 или 140 мГр в год. Однако в отличие от исследований по ограничению калорий (ОК) на животных, максимальная продолжительность жизни остается неизменной при действии малых доз ИИ. Если ИИ способствует увеличению продолжительности жизни, то может ли механизм включать адаптивную реакцию на стресс, которая позволяет клеткам и организму лучше противостоять разрушительному воздействию генотоксических агентов путем предварительного воздействия в малой дозе [147]?

Tanaka с соавт. [148] облучал гамма-лучами самцов и самок мышей в течение 400 дней при различных мощностях облучения, включая 1,1 и 0,05 мГр в сутки. Сокращение продолжительности жизни наблюдалось только у самок мышей, облученных дозой 1,1 мГр в

день по сравнению с контрольной группой; укорочение жизни можно было объяснить преждевременным старением, так как не наблюдалось повышенной заболеваемости раком. Хотя при воздействии высоких доз радиации (3 - 8,3 Гр), у мышей, облученных в раннем возрасте, сокращение продолжительности жизни было более выраженным по сравнению с мышами, облученными в более старшем возрасте. У облученных *in vitro* очень малой дозой гамма-излучения в 1 мГр фибробластов человека не наблюдалось снижения количества пассажей, в то время как фибробласты, подвергшиеся воздействию ионов углерода, обнаруженных в космосе, испытывали раннее старение в аналогичной дозе [149]. У мышей, подвергшихся воздействию ионов углерода, относительная биологическая эффективность (ОБЭ) по показателям старения была 1,4, что всего на 40% отличается от ОБЭ в 1,0 для гамма-лучей [150]. Тем не менее, космическое излучение считается опасным для космонавтов и может привести к сокращению продолжительности жизни и усилению нестабильности генома.

Современные международные нормы, оценивающие вред от действия радиации, основаны на смертности от раковых заболеваний. Альтернативным критерием является средняя потеря продолжительности жизни от рака и нераковых заболеваний. Некоторые свидетельства уменьшения продолжительности жизни вне зависимости от опухолевого эффекта были зарегистрированы среди американских радиологов и художников-радиологов [53]. В докладе BEIR VII указано, что сокращение жизни при облучении в малых дозах почти полностью связано с радиационно-индуцированным раком. Международная комиссия по радиологической защите [151] оценила потерю ожидаемой продолжительности жизни от рака костного мозга в 31 год, рака молочной железы как 18 лет и рака яичников как 17 лет. Продолжительность жизни немецких пациентов, получавших рентгеноконтрастное средство Торотраст и облученных неоднородным, высокодозным ^{232}Th альфа-излучением, была заметно короче (на 18 лет, $P<0,001$), чем у контрольной группы пациентов [152]. Cologne и Preston [153] показали, что уменьшение продолжительности жизни произошло и у выживших после взрыва атомной бомбы. Более чем в 70% случаев укорочение жизни происходит из-за рака. Большинство исследований наглядно демонстрируют, что при облучении человека продолжительность его жизни, как правило, снижается, хотя вклад ИИ в развитие преждевременного старения и других факторов, кроме злокачественных новообразований, еще не мало изучен [23].

Глава 2. Основные методы и подходы, используемые в работе

Анализ многомерных биологических данных – трудоемкая задача, так как количество измерений насчитывает десятки тысяч. С помощью компьютерного анализа данных микрочипов можно выделять группы генов, которые дифференциально экспрессируются в исследуемых тканях организма, а также анализировать связи генов друг с другом используя информацию из генных сетей и сигнальных путей, представленную в базах данных и научной литературе. Сигнальный путь - это последовательность молекул, посредством которых информация в клетке передается от клеточного рецептора внутрь клетки.

Основным преимуществом алгоритмов анализа сигнальных путей является снижение размерности больших данных RNA-seq, ДНК-микрочипов, метилирования ДНК, однонуклеотидных полимрфизмов, экспрессии малых некодирующих РНК и экспрессии белков, что облегчает возможность их дальнейшей интерпретации и использования в математических моделях.

Выделяют три основных подхода к анализу сигнальных путей:

1) подход, основанный на анализе представленности групп генов Over-Representation Analysis или Enrichment Analysis (ORA),
2) алгоритмы, основанные на оценке функциональных групп генов Functional Class Scoring (FCS),
3) подход, основанный на топологии сетей взаимодействия групп генов (Pathway Topology (PT)).

2.1. Анализ данных экспрессии генов: основные принципы

Широкое применение для компьютерного анализа экспрессии генов получили ДНК-микрочипы [154]. ДНК-микрочипы используют для анализа изменения экспрессии генов, выявления однонуклеотидных полиморфизмов, генотипирования или повторного секвенирования мутантных геномов.

Для решения задач оценки экспрессии генов существует несколько технологических платформ, например разработанные компанией Affymetrix микрочипы, использующие технологию синтеза коротких олигонуклеотидных зондов на поверхности микрочипа. Такие данные требуют адекватных статистических и математических методов обработки с

применением специального программного комплекса, который позволил бы отфильтровать зашумленные сигналы экспрессии на микрочипе и упростить работу с большим объемом данных.

Статистическая обработка результатов экспрессионного анализа может быть разделена на два этапа: первичная обработка данных - анализ изображений со сканера (вычитание фонового шума, фильтрация и нормализация данных), и собственно анализ, ориентированный на решение определенной биологической задачи. Чаще всего это задача поиска дифференциально экспрессированных генов, классификации выборки образцов по их экспрессионных профилям или определение паттернов [155].

Задачей процедур вычитания фонового шума, фильтрации и нормализации является устранение систематической вариабельности между различными чипами, что дает возможность сравнивать результаты с разных чипов между собой. Фоновый шум для кДНК-чипов устраняется путем вычитания неспецифичных сигналов из сигналов точек с зондами. Нормализация предполагает сравнение различных чипов с некоторой стандартной интенсивностью. Это может быть средняя интенсивность всех точек рассматриваемого чипа, интенсивность генов “домашнего хозяйства” или проб, содержащих известное и постоянное количество помеченного контрольного образца. Отрицательным контролем нормализации могут служить последовательности из другого организма. Данные чаще всего логарифмируют, чтобы уменьшить дисперсию распределения экспрессионного сигнала [156].

Первый этап анализа данных является очень важным, поскольку именно он позволяет определить изменение экспрессионного сигнала в исследуемом образце по сравнению с контролем и значимость этого изменения, извлекая таким образом биологическую информацию из большого объема данных, то есть позволяет определить так называемую дифференциальную экспрессию. Одна из главных проблем, которая существует на данном этапе, — стандартизация статистических методов, использующихся для определения изменения сигнала. Особенностью статистической обработки экспрессионных данных является тот факт, что классические статистические методы разрабатывались для случаев, когда исследователь имеет дело с ограниченным числом переменных и большим числом наблюдений. Микрочипы же производят данные для нескольких тысяч переменных, а именно уровней экспрессии генов, для небольшого числа образцов. Самые больше микрочиповые эксперименты включают в себя сотни образцов против тысяч исследуемых генов. Некоторые подходы к статистической обработке данных для определения изменения экспрессионного

сигнала в исследуемом образце по сравнению с контролем описаны ниже. Как правило, это набор образцов, которые могут быть разделены на несколько групп. Группы могут различаться по условиям эксперимента или изучаемому признаку. В простейшем случае это две группы: микрочиповые данные для образцов исследуемого объекта в одной группе и для контрольных образцов - в другой. Основная задача статистических методов - поиск генов, которые изменяют экспрессию в исследуемом объекте по сравнению с контролем.

Общий алгоритм выявления таких генов может быть разбит на три этапа [157]. На первом этапе происходит расчет статистики, задача которой - сравнение средних двух групп. Далее, если известно распределение статистики, рассчитывается значение *p-value* для каждого гена. *P-value* в данном случае - это вероятность ошибочно принять данный ген за изменивший экспрессию, то есть вероятность случайно получить такое же или более экстремальное значение статистики. Далее устанавливаются пороговые значения для статистики и *p-value*. При этом гены, имеющие более экстремальное значение статистики, чем пороговое, или меньшее значение *p-value*, чем пороговое, определяются как дифференциально экспрессируемые гены. Наиболее простой и интуитивный метод подразумевает расчет отношения уровня экспрессии в исследуемом объекте к уровню экспрессии этого гена в контроле [155]. В простейшем случае ищут отношение среднего значения экспрессии гена для группы образцов исследуемого объекта к среднему значению экспрессии в группе контрольных образцов. Далее выбирают некоторое пороговое значение данной статистики и все гены, для которых модуль этого отношения превышает данное пороговое значение, определяются как дифференциально экспрессируемые. Выбор порога произволен, как правило, это значение равняется 2-2,5, что приводит к снижению как специфичности, то есть большому числу ложноположительных результатов, так и чувствительности, то есть большому числу ложноотрицательных результатов, метода. Кроме того, метод не учитывает ни биологическую вариабельность образцов в частности, ни вариабельность экспрессии вообще, что делает невозможным достоверно оценить утверждение о дифференциальной экспрессии.

Оценить эту достоверность позволяют методы, основанные на тестировании гипотез о равенстве средних в двух выборках. Все подобные методы подразумевают вычисление некоторой функции от исходных данных, так называемая тестовая статистика, с известным распределением и оценку *p-value* для вычисленного значения статистики. При этом дифференциально экспрессированными генами считаются гены, значение *p-value* для которых ниже порогового значения, как правило, равного 0,05. Одним из таких методов является

Т-статистика. Большим недостатком таких тестов является то, что они предполагают нормальное распределение данных и независимость двух групп образцов, что для реальных экспрессионных данных не верно.

2.2. Анализ метаболических путей по данным генной экспрессии

Анализ метаболических (сигнальных) путей основан на анализе представленности групп генов и использует долю генов в пути или в любой другой группе генов, которые дифференциально экспрессируются. Цель данного метода - получение списка наиболее релевантных путей, упорядоченных в соответствии с полученными для них значениями *p-value*.

Основная гипотеза метода ORA заключается в том, что значимые метаболические пути могут быть определены по количеству генов, демонстрирующих дифференциальную экспрессию в пути при определенных условиях. Статистическая значимость между генами из путей и списком дифференциально экспрессирующихся генов определяется с помощью статистических тестов таких, как тест Фишера, тест на основе гипергеометрического распределения и т.д. Основным недостатком данного метода является то, что при его использовании не учитывается значимая биологическая информация о взаимной регуляции сигнальных путей и составляющих их генов, что впоследствии приводит к смещенным результатам.

Метод, основанный на оценке функциональных групп генов (FSC), предполагает, что важны не только сильные изменения экспрессии в индивидуальных генах, но и малые скоординированные изменения в функциональных наборах генов (т.е. самих путях). Все методы данной группы, за малым исключением, работают по следующей схеме:

1. Вычисляется статистика, показывающая значимость дифференциальной экспрессии гена (t-test, Z-score, ANOVA, Q-statistics и т.д.).
2. Вычисляется статистика, показывающая значимость активации сигнального пути (статистика Колмогорова-Смирнова, сумма, медиана или среднее значений статистик из п. 1 и т.д.).
3. Производится оценка значимости статистики, полученной в п. 2.

В отличие от метода ORA данный подход не использует строгое разделение генов на группы статистически значимых и незначимых, а использует все доступные молекулярные

измерения для оценки активации сигнального пути. Однако недостатком данного метода, как и предыдущего метода, является то, что активация сигнального пути оценивается независимо от других путей, что неверно с биологической точки зрения, поскольку один ген может участвовать в нескольких процессах. Также в данном методе часто значения дифференциальной экспрессии используются только для ранжирования генов и игнорируются в дальнейших расчетах, считая в дальнейшим их эквивалентными.

Третья группа алгоритмов, которая была преимущественно использована в настоящей работе, в отличии от предыдущих двух групп, использует не только информацию, относящуюся к списку генов в пути и корреляции между генами, а также основывается на топологии сетей взаимодействия генов или их продуктов в пути, например, алгоритм DART [158].

Первичная информация о сигнальных путях представляется в этом алгоритме следующим образом. Пусть P – сигнальный путь, состоящий из числа сенситизированных генов в ответ на активацию пути и числа (десенситизированных) даунрегулированных генов. Гены будем считать сенситизированными (апрегулированными), если они имеют положительное значение изменения экспрессии, и десенситизированными (даунрегулированными), если наоборот. Значение рассчитывается следующим образом:

$$logfc = \frac{m \sum_{i=1}^{n} tumor_i}{n \sum_{j=1}^{m} normal_j}, \quad (2.2.1)$$

где $tumor_i$ отвечает значению экспрессии i-го образца в экспериментальной группе, а $normal_j$ отвечает значению экспрессии j-го образца в контрольной группе.

На вход данный алгоритм принимает данные экспрессии генов X в виде таблицы, строки в котором отвечают числу генов G, а столбцы числу образцов n_s. Входной датасет никак не связан с первичной информацией о сигнальных путях. Цель данного алгоритма - оценить значения активации сигнальных путей во всех образцах.

Первым шагом в данном алгоритме является оценка первичной информации в контексте входных данных. Данный шаг включает построение сети генной коэкспрессии на основе корреляции между значениями экспрессии всех генов, входящих в сигнальный путь P. В данном алгоритме в качестве меры используется коэффициент корреляции Пирсона. Для проверки гипотезы о значимости полученных значений корреляции над коэффициентами

выполняется преобразование Фишера (трансформация Фишера). После чего выводится матрица значений *p-value* для каждого значения. Далее производится оценка доли ложноположительных результатов с помощью пермутаций значений генной экспрессии. Парам генов со значением корреляции, прошедшим данный порог, впоследствии назначается ребро в строящейся сети.

Далее производится оценка значимости первичной информации о пути с помощью сравнения с полученной сетью коэкспрессии. Каждому ребру сети, полученной в п.1 назначается бинарный вес (-1, 1) в зависимости от знака значения корреляции между парой генов. Также данной паре генов назначается бинарный знак -1, если поведение генов различно в ответ на активацию/ингибирование пути, и 1, если поведение одинаково. В дальнейшем ребро считается релевантным, если знаки в обеих операциях совпадают, нерелевантные ребра удаляются. Оценка релевантности данной сети выводится как доля релевантных ребер относительно общего числа ребер.

Метрика, оценивающая активацию сигнального пути выглядит следующим образом:

$$\vec{S}_{W\,AV} = \frac{1}{\sqrt{\sum_{i \in N} k_i^2}} \sum_{i \in N} \sigma_i k_i \vec{z}_i \quad (2.2.2),$$

где $\vec{z}_i$ – нормализованная z-оценка профиля экспрессии генов, σ_i – знак активации в пути, k_i – степень вершины, соответствующей гену *i* в коэкспрессионной сети.

2.3. Используемые базы данных и программное обеспечение

Ниже приведена таблица 2.3.1., содержащая все используемые в настоящей работе базы данных и программное обеспечение (таблица 2.3.2).

Таблица 2.3.1. Описание баз данных, используемых в настоящей работе.

База данных	Краткое описание	Ссылка
Entrez	Веб-сервис, позволяющий пользователям со всего мира осуществлять поиск необходимой информации по базам данных, собранных в единую сеть Национального центра биотехнологической информации (NCBI).	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene
Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)	Веб-сервис, в котором собраны базы данных химических, биологических и метаболических путей, результаты валидации лекарств, а также базы данных по болезням. Разработан в Киотском Университете.	[159]

Продолжение таблицы 2.3.1.

Gene Expression Omnibus (GEO)	Публичное международное хранилище, в котором собраны ДНК-чипы, результаты секвенирования нового поколения и другие данные о геномике.	[160]
ArrayExpress	Архив данных Functional Genomics Data, собранный из результатов экспериментов, полученных с помощью высокопроизводительных методов молекулярной биологии. Сервис предоставляет данные в открытом доступе для всего научного сообщества.	http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress

Таблица 2.3.2. Описание программного обеспечения, используемого в настоящей работе.

Программный пакет	Краткое описание	Ссылка
OncoFinder	Данный пакет позволяет провести картирование данных о генной экспрессии на выбранные исследователем внутриклеточные сигнальные пути. Анализ этих сигнальных путей позволяет выявить различия в физиологическом состоянии при различных заболеваниях.	[161]
GOsummaries	Пакет, написанный на R, который визуализирует Генные Онтологии разных генов.	[162]
Bioconductor	Бесплатная и открытая среда для анализа и обработки данных по экспериментальной геномике, полученных из результатов экспериментов в области молекулярной биологии.	[163,164]
biomaRt	Обновленный пакет Bioconductor, объединяющий в себе базы данных BioMart и программное обеспечение для анализа данных пакета Bioconductor. Позволяет аннотировать широкий спектр генов или продуктов экспрессии этих генов, а также предоставляет возможность осуществлять поиск интересующих последовательностей и информацию о SNP.	[165,166]
GeneAnswers	Пакет GeneAnswers позволяет осуществить классификацию генов по функциям, используя оценки теста Фишера с базами данных GO и KEGG, а также создает gene-concept network и может быть использован для построения protein-protein interaction networks.	[167]

Продолжение таблицы 2.3.2.

алгоритм STAR	Самый быстрый, на данный момент, алгоритм выравнивания RNA-seq.	[168]
алгоритм BLAT	BLAT используется для поиска схожих фрагментов исследуемой последовательности среди последовательностей, уже существующих в геномной базе данных.	[169]
EDAseq	Метод, позволяющий получать числовые и графические представления ключевых особенностей данных наряду с реализацией как нормализации содержания GC-повторов для данных РНК-Seq.	[170]
NOIseq	Пакет, позволяющий проводить анализ данных экспрессии RNA-seq и других схожих типов данных. Строит графики, по которым можно оценить распределение, насыщенность экспрессии на хромосому, тип детектируемых особенностей, их значимость и т.д.	[171]
GOrilla	Веб-сервис, позволяющий определять повышенные GO terms в ранжированном списке генов без требования какой-либо дополнительной информации о таргетах, при этом использует гибкий статистический подход	[172]
REVIGO	Веб-сервис, который суммирует большие и неразборчивые списки GO terms, находя репрезентативные подмножества условий, используя простой алгоритм кластеризации, который основан на расчетах мер семантической близости (semantic similarity measures), визуализирует этот безызбыточный GO term set разными способами для улучшения интрерпретации полученных результатов.	[173]
R	Язык программирования R - это удобная среда для проведения статистических вычислений и построениях графиков. R предоставляет широкий спектр статистических методов, таких как: линейное и нелинейное моделирование, классические статистические тесты, классификация, кластеризация и т.д., а также графических методов.	http://www.R-project.org
Prism	Это программное обеспечение от GraphPad, которое содержит в своем пакете биостатистические методы, позволяет строить кривые нелинейной регрессии и представлять данные в научном стиле	https://go.graphpad.com

Продолжение таблицы 2.3.2.

GeroScope	Это алгоритм, разработанный для поиска потенциальных геропротекторов, успешно прошедший валидацию. Была продемонстрирована большая корреляция между предсказаниями, сделанными с помощью алгоритма и экспериментальными данными.	[174]
gplots	В пакет входят многофункциональные инструменты на языке программирования R, позволяющие обрабатывать и визуализировать исследуемые данные	https://www.rdocumentation.org/packages/gplots/versions/3.0.1

Глава 3. Результаты и обсуждение

Глава 3 содержит три раздела, каждый из которых содержит краткие аннотацию и литературный обзор, а также методы с результатами, обсуждением и заключением.

В первой части главы изучаются процессы старения на уровне транскриптома. Сравниваются фибробласты, взятые из культуры клеток, а также от пациентов разных возрастов и больных с прогерией Хатчинсона-Гилфорда. Результаты сравнения показали, что состояния активации путей передачи сигналов в клетках, полученных от молодых пациентов с СПХГ сходны с сигнальными путями, полученными от здоровых людей среднего и пожилого возраста. Таким образом были определены пути-мишени, на которые могут быть направлены новые лекарства и комбинации лекарственных средств как для лечения СПХГ, так и для предотвращения нормального старения. Эти результаты важны в свете описанных выше механизмов, связанных с облученными пациентами: эффекты от ИИ и механизмы его действия на клетки аналогичны эффектам, наблюдаемым в наследуемых прогероидных синдромах и имеют сходства с преждевременным естественным старением.

Во второй части главы обсуждается влияние ИИ в малых и больших дозах на клетки человека. По результатам литературного и биоинформатического анализа было показано, что в ответ на воздействие малых доз ИИ активируются пути p53, ATM и MAPK, а также гены, влияющие на регуляцию клеточного цикла и синтез провоспалительных цитокинов. Излучение повышает экспрессию генов дифференцировки клеток и генов, участвующих в апоптозе и ответ на повреждение ДНК, что вызывает индукцию белков теплового шока и клеточного старения. Было показано, что клетки фибробластов, облученные более высокой дозой (2 Гр, в сравнении с дозой 5 сГр) имеют транскриптомный профиль, схожий с репликативно состаренными фибробластами, причем сходство заметно уже через 3 часа после облучения.

Проведенный биоинформатический анализ активируемых генов и сигнальных путей может стать основой для новых сверхточных биосенсоров, чувствительных к загрязнениям в окружающей среде, в частности, для создания чипов-биосенсоров (РНК-микрочипов) или наборов для ПЦР.

В заключительной части главы описаны две базы данных: geroprotectors.org и radioprotectors.org. БД содержат в себе списки веществ, способных предотвратить преждевременное старение и эффекты, связанные с ИИ. Поскольку процессы старения и ИИ

схожи по транскриптомным профилям, часть веществ пересекается. Все активные молекулы классифицированы и могут быть отсортированы по свойствам: механизмы действия, токсичность, биодоступность, рекомендуемые дозы, происхождение, индикация по MESH, а также по одобрению FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США).

3.1. Активация сигнальных путей в процессе старения: фибробласты больных прогерией Хатчинсона-Гилфорда сопоставимы с клетками здоровых людей среднего и пожилого возраста

В течение нескольких последних десятилетий в понимании молекулярных основ старения человека произошел значительный прогресс, связанный с анализом синдромов преждевременного старения. Белок прогерин, измененная форма ламина А, был идентифицирован в качестве причины преждевременного старения у больных с синдром прогерии Хатчинсона-Гилфорда (СПХГ). Также прогерин вносит вклад в нормальный процесс старения. Тем не менее, вопрос о том, на самом ли деле развитие СПХГ повторяет нормальный процесс старения на клеточном и организменном уровне, или оно просто имитирует схожий со старением фенотип, широко обсуждается в литературе. В данной части работы мы проанализировали находящиеся в открытом доступе наборы данных с микрочипов, полученные для фибробластов, проходящих процесс клеточного старения в культуре, а также фибробластов, взятых от молодых, среднего возраста и престарелых лиц, а также от пациентов с СПХГ. Применение метода анализа сигнальных путей (GeroScope) и платформ поиска новых лекарств позволило нам установить состояния активации 65 основных клеточных сигнальных путей. Наш анализ показывает, что состояния активации путей передачи сигналов в клетках, полученных от молодых пациентов с СПХГ, сильно напоминают таковые в клетках, полученных от здоровых людей среднего и пожилого возраста. Это ясно указывает на то, что СПХГ может действительно представлять собой ускоренное старение, а не лишь его подобие. Наши данные также указывают на возможные пути-мишени, на которые могут быть направлены новые лекарства и комбинации лекарственных средств как для лечения СПХГ, так и для предотвращения нормального старения.

Введение

Расстройства, связанные с преждевременным старением, как модели для изучения старения человека

Проблема старения человека остается загадкой для биологов и врачей вот уже многие десятилетия, что приводит к согласованным усилиям, преследующим целью раскрыть физиологические, клеточные и молекулярные механизмы старения. Потенциально успешным подходом здесь может послужить анализ встречающихся в природе расстройств, связанных со старением [175,176]. Преждевременное старение проявляется, в частности, в случае редкого генетического заболевания, синдрома прогерии Хатчинсона-Гилфорда или СПХГ [177], который представляет собой заболевание, связанное с появлением основных фенотипических признаков ускоренного клеточного, физиологических и анатомического старения большей части основных тканей и органов [178,179].

Наиболее частой мутацией, вызывающей СПХГ, является *de novo* аутосомно-доминантная замена одного основания в экзоне 11 гена *LMNA* (*C1824T*), которая активирует критический сайт сплайсинга, ведущий к трансляции укороченного варианта белка ламина, известного как прогерин [180]. Прогерин подвергается необратимому фарнезилированию и является токсичным для клеток [181]. Прогерин обнаруживается и у здоровых людей на протяжении всей продолжительности их жизни, начиная с 1-месячного возраста [182]; его накопление приводит к повреждению ДНК и проявляется на молекулярном уровне в активации ATR и ATM, а также фосфорилировании Chk1, Chk2 и p53 [183,184]. Кроме того, фибробласты, взятые от пациентов с СПХГ, медленнее рекрутируют белки, связанные с механизмами внутриклеточного ответа на повреждение ДНК, такие как p53-связывающий белок 1 (53BP1), что указывает на нарушение путей репарации ДНК [185].

Ламины A и C, продукты альтернативного сплайсинга гена LMNA, являются неотъемлемыми компонентами важнейшей динамической клеточной структуры, известной как ядерная пластинка или ламина [186]. Эти белки рассматриваются в качестве платформы, участвующей в регуляции внутриклеточных сигнальных путей, идущих к ядру [187] и взаимодействующих с хроматином [188,189]. Сравнительный анализ, имевший целью полногеномное сопоставление взаимодействий промоторов генов с ламином A и прогерином, показал, что ламин A ассоциирован с рядом транскрипционных факторов, а его вариант

прогерин вызывает глобальные изменения организации хроматина за счет усиления взаимодействий с определенным подмножеством генов в дополнение к генам, связанным с ламином А [190].

Биологическое значение взаимодействий между ламином А и прогерин-ассоциированными участками генома с точки зрения старения и болезней остается одним из важных направлений исследований [191,192]. Геномная неустойчивость, связанная с дефектами созревания преламина А в случае СПХГ, может также играть существенную роль в нормальном процессе старения и в болезнях, связанных со старением [193]. В дополнение к модуляции путей репарации ДНК, выявленной в ходе исследований фибробластов, полученных от пациентов с СПХГ [185], по меньшей мере десяток дополнительных путей предположительно участвуют в прогрессировании старения человека [194]. Это могут быть пути, связанные с энергетическим обменом, а также пути, участвующие в рецепции питательных веществ [195].

Действительно ли СПХГ представляет собой ускоренное старение, или это лишь фенотипически схожий процесс?

В течение долгого времени остается нерешенным вопрос, аналогичен ли СПХГ нормальному процессу старения на клеточном и организменном уровне, или он просто является подобием старения и лишь имитирует нормальное старение. Патология СПХГ от клеточного уровня вплоть до организменного уровня указывает на то, что почти все известные характеристики «нормального» старения возникают и в случае СПХГ. Основное различие может быть просто переменой мест причины и следствия в этих двух явлениях. То, что мы видим, как старение, является скорее "следствием", а не "причиной"; в то время как причиной старения может служить укорочение теломер, повреждение митохондрий, анеуплоидия, истощение стволовых клеток и так далее [194]. В то же самое время, при развитии СПХГ, хотя основной причиной синдрома может быть перепроизводство прогерина, оно вызывает ряд вторичных и косвенных эффектов, которые практически неотличимы от нормального старения, и, следовательно, приводят к состоянию, которое представляется очень похожим и практически неотличимым от обычного старения.

В предыдущем сравнительном анализе микрочипов мы определили набор 361 генов, которые характеризовались по меньшей мере двукратным статистически значимым изменением уровня активности при СПХГ в сравнении с контрольной группой; белки

внеклеточного матрикса и транскрипционные факторы оказались категориями, испытывающими наибольшие изменения, при этом ген транскрипционного фактора MEOX2/GAX характеризовался наибольшим изменением активности [179]. Мы провели представленный в этой работе анализ, преследуя цель расширение сферы охваченных генов и определение дополнительных пути, подверженных воздействию в процессах старения и преждевременного старения в случае таких синдромов как СПХГ; кроме того, мы намеревались установить, какие изменения обнаруженных путей могут быть использованы для разработки новых и высокоточных терапевтических стратегий.

В настоящем исследовании мы проанализировали широкий спектр данных микрочипов, полученных для репликативно-стареющих клеточных линий, линий, полученных от людей различного возраста, и от лиц, страдающих СПХГ. Мы использовали вновь разработанный нами инструмент развернутого анализа сигнальных путей и поиска новых лекарств под названием GeroScope, который базируется на платформе OncoFinder [196,197] для анализа данных по экспрессии генов, полученных с применением ряда платформ с низкой частотой появления ошибок. Этот инструмент предоставляет возможность точно определить изменения во внутриклеточной регуляции, используя компьютерные вычисления [198,199]. На выходе этот алгоритм выдает значения «силы» активации пути, при этом положительные и отрицательные значения САП указывают на повышающее и понижающее регулирование, соответственно. Этот подход ранее был предложен для решения задач, возникающих в изучении процесса старения, и ранжирования потенциальных геропротекторов [200]. Система анализа пути платформы OncoFinder была изменена так, чтобы включать в себя набор сигнальных путей, участвующих в процессе старения и регуляции продолжительности жизни [200].

Мы разделили наш анализ на два этапа: на первом этапе мы проанализировали изменения сигнальных путей, которые происходят по мере увеличения номера поколения клеток в экспериментах *in vitro*. Анализ репликативно стареющих фибробластов продемонстрировал наличие систематических изменений в состоянии активности отдельных клеточных сигнальных путей, возрастающих по мере увеличения номера поколения клеток. Мы назвали это явление "дрейф активации сигнальных путей".

В фазе два, мы проанализировали изменения в степени активации сигнальных путей по мере старения, используя данные для фибробластов, полученных от разных возрастных групп, а также от больных СПХГ. Замечательным образом этот анализ показал, что активация

сигнальных путей в клетках, полученных от молодых (по возрасту) пациентов с СПХГ, напоминают клетки, полученные от здоровых людей среднего возраста и пожилых, а не клетки, полученные от молодых здоровых людей. Это подкрепляет предположение, что СПХГ в действительности представляет собой ускоренное старение, а не процесс, лишь внешне подобный старению по ряду фенотипических признаков.

Наши данные также позволили определить дополнительные сигнальные пути, которые обладают значительным терапевтическим потенциалом и могут служить мишенями для замедления развития нормального старения и симптомов, связанных со старением, используя СПХГ в качестве модели.

Материалы и Методы

В данном исследовании мы проанализировали образцы, отобранные из различных наборов данных, полученных из Gene Expression Omnibus (GEO) и ArrayExpress баз данных. Для исследования репликативного старения фибробластов мы использовали набор данных E-MTAB-2086 из Lackner и др. [201]. Для сравнения «молодых», «среднего возраста», «пожилых» и СПХГ фибробластов мы использовали 7 различных наборов данных (обзор представлен в Таблице 3.3.1).

Все процедуры предварительной обработки были выполнены с использованием R (http://www.R-project.org/) и Bioconductor [202,203]. «Сырые» данные с микрочипов из набора данных E-MTAB-2086 были предварительно обработаны и нормированы с помощью программного пакета "oligo" [204]. «Сырые» данные с микрочипов из наборов данных GSE3860 [179], GSE15829 [205], GSE17032 [206], E-Mexp-2597 [207] и E-Mexp-3097 [208] нормализовали с использованием алгоритма цитозин-гуанинового надежного мультимассивного анализа и суммированы с использованием обновленных файлов определений чипов из хранилища Brainarray (версия 18) [209]. Датасеты GSE28300 [210] и GSE55118 [211] были предварительно обработаны с использованием пакета "limma" из Bioconductor, реализующего 'normexp' корректировку фона и квантильную нормализацию [212]. Из-за отсутствия исходных данных, предварительно обработанные значения экспрессии генов из набора данных GSE15829 [205] были взяты в том виде, в каком они были депонированы авторами в GEO.

Таблица 3.1.1. Количество проанализированных образцов по четырем группам («молодая», «средняя» и «пожилая» и «СПХГ»).

Набор данных	*Молодая*	*Средняя*	*Пожилая*	*СПХГ*	*Ссылка*
GSE3860	-	-	-	18	[179]
GSE15829	-	1	4	-	[205]
GSE17032	4	19	1	-	[206]
GSE28300	6	-	6	-	[210]
GSE55118	5	5	5	-	[211]
E-MEXP-2597	-	-	-	5	[207]
E-MEXP-3097	-	-	-	3	[208]
Всего	15	25	16	26	

Все образцы, собранные из этих наборов данных, были разделены на четыре группы: «молодые», «среднего возраста», «пожилые» и “СПХГ” фибробласты. «Молодые», «среднего возраста» и «пожилые» группы были сформированы в зависимости от возраста донора. «Молодая» группа состояла из фибробластов кожи, полученных от доноров 15-30 лет, «среднего возраста» - 40-55 лет, «пожилая» - 60+ лет.

Каждый предварительно обработанный набор данных по экспрессии генов был проанализирован независимо от других с использованием алгоритма OncoFinder [196], реализованного на новой платформе для анализа сигнальных путей, вовлеченных в процесс старения, которая называется GeroScope. Использование предварительно обработанных данных по экспрессии генов в качестве входных позволяет проводить сравнения различных наборов данных с низкой частотой появления ошибок, а также позволяет устанавливать с помощью математических оценок функциональные особенности внутриклеточной регуляции. Для каждого исследуемого образца алгоритм выполняет «case-control» попарное сравнение с помощью t-теста Стьюдента, формирует список генов со статистически значимым изменением уровня экспрессии и вычисляет САП, величину, которое служит в качестве количественной меры активации пути. Положительные и отрицательные значения САП указывают повышающую и понижающую регуляцию, соответственно. В этом исследовании гены с изменением уровня экспрессии в ≥ 1.5 раз и *p-value* < 0.05 считались генами со статистически значимым изменением уровня экспрессии.

Каждый набор данных был обработан отдельно и значения САП для 65 основных сигнальных путей, были вычислены для каждого исследуемого образца в наборе данных.

Значения САП для группы "СПХГ" из наборов данных GSE3860 [179], E-Mexp-2597 [207] и E-Mexp-3097 [208], были получены с использованием здоровых человеческих фибробластов, взятых из этих наборов данных в качестве эталона. В свою очередь, значения САП для «молодой», «средней» и «пожилой» группы были получены из наборов данных GSE15829 [205], GSE17032 [206], GSE28300 [210] и GSE55118 [211], используя образцы из «молодой» группы в качестве эталона. Так как образцы из «молодой» группы нормализовалась на самих себя, все значения САП всех отдельных образцов были равны нулю, при использовании стандартных пороговых значений. Тем не менее, для учета любого изменения, затрагивающего активацию сигнальных путей, и получения большего количества информации, мы решили не применять к «молодой» группе фильтрацию и учитывали все изменения в экспрессии генов, получив, тем самым, ненулевые значения САП для отдельных образцов из этой группы. После того, как значения САП были вычислены для всех наборов данных, все образцы были объединены в группы, к которым они принадлежат, в результате в «молодой», «средней» и «пожилой» и «СПХГ» группах оказалось 15, 25, 16 и 26 образцов, соответственно (см. Табл. 3.1.1).

Карты иерархической кластеризации были получены с использованием функции 'heatmap.2' из пакета 'gplots' [213]. График кросс-корреляций и карта иерархической кластеризации образцов были построены с использованием пакета 'corrplot' [214].

Анализ основных компонент осуществлен с использованием функции 'prcomp' в пакете 'stats'. Для определения сходства активации сигнальных путей между исследуемыми группами были проведены статистические тесты эквивалентности. Они проверяли нулевую гипотезу о разнице в распределениях значений САП в сравнении с альтернативной гипотезой, утверждавшей, что эти распределения одинаковы. Для парного сравнения двух распределений, был использован t-тест. Для сравнения трех и четырех распределений, мы использовали F-тест (односторонний Anova тест). Доверительные интервалы для эквивалентности были выбраны в соответствии с эталонными значениями из [215], так чтобы все тесты были сопоставимы (0.74 для t-теста и $0.74/\sqrt{2}$ для F-теста). Статистическая значимость была установлена с использованием $p=0.05$.

Результаты

Репликативное старение фибробластов

На первом этапе нашего анализа мы хотели определить разницу в активации сигнальных путей по мере старения клеток *in vitro.* Мы проанализировали различия между здоровыми фибробластами, соответствующими различным клеточным генерациям in vitro; нами был выбран набор данных E-MTAB-2086 из базы данных ArrayExpress (http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/) в качестве исходных данных. Первоначально полученный в исследовании Lackner с соавт. [201], этот набор содержит 3 группы репликативно стареющих фибробластов (клеточная линия IMR90): 50 генераций (4 образца), 70 генераций (3 образца) и 80 генераций (2 образца). Три образца фибробластов, которые прошли лишь через 30 циклов пересева, использовали в качестве эталона.

Использование профилей активации путей позволило охарактеризовать каждую группу клеток по отдельности на уровне сигнальных путей (см. рис. 3.1.1), а также выявить специфические особенности, отличающие каждую группу в силу ее клеточного возраста. Примерами таких путей являются апоптоз, репарация ошибок комплиментарности и прочие механизмы репарации ДНК, которые испытывают устойчивую понижающую регуляцию с увеличением номера клеточного поколения. С другой стороны, основные сигнальные пути, такие как mTOR, GSK3, TGF-бета, PAK, ILK, GPCR и ERK подвержены повышающей регуляции. Также, GPCR-, эстроген- и PPAR-пути претерпевают повышающую регуляцию в группах, которые прошли 50 и 70 циклов пересева, но затем, после 80 циклов, подвергаются понижающей регуляции.

Кроме того, была замечена одинаковая незначительная понижающая регуляция FLT3-пути во всех образцах, относящихся к группам 70 и 50 циклов, но, при этом, вариабельный характер изменений в группе, прошедшей 80 циклов пересева, в которой в одном образце наблюдалась понижающая, а в другом – незначительная повышающая регуляция. Похожим образом, SMAD-путь претерпевает умеренную повышающую регуляцию в одном образце из группы, прошедшей 80 циклов пересева и незначительную понижающую регуляцию в другом образце.

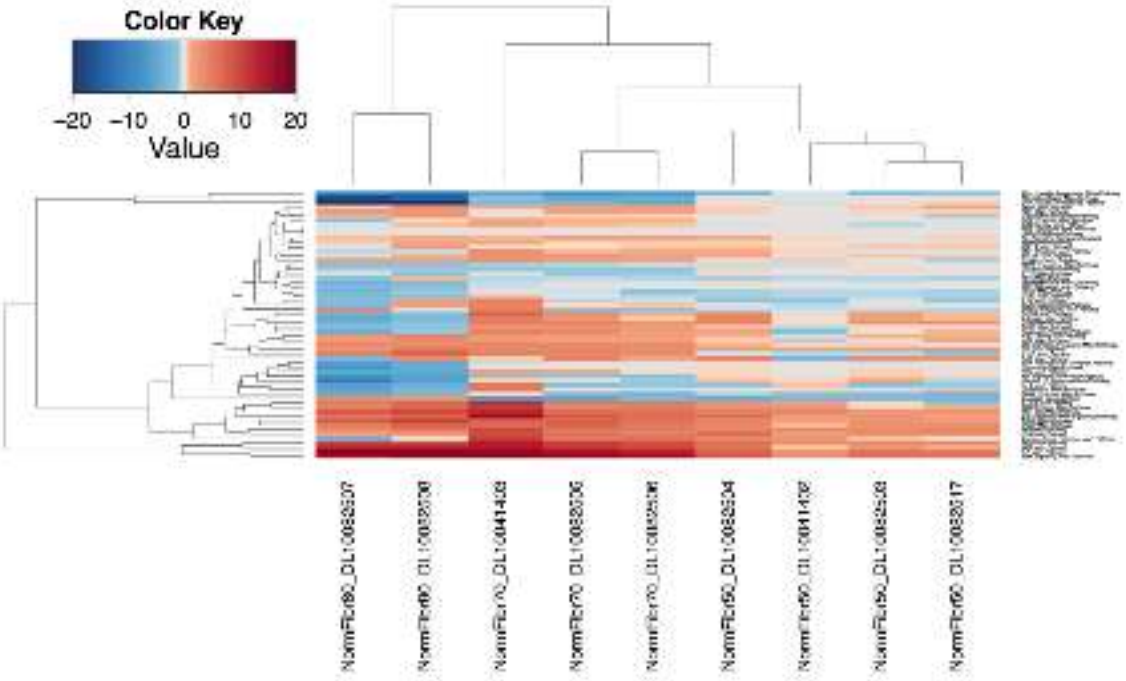

Рисунок 3.1.1. Тепловая карта результатов иерархической кластеризации «без учителя» сигнальных путей для наборов данных E-MTAB-2086. Пути, испытывающие повышающую и понижающую регуляцию, показаны красным и синим цветом, соответственно. Два первых кластеризованных образца в левой части схемы соответствуют клеткам, прошедшим 80 циклов пересева, за ними следуют три образца, прошедших 70 циклов пересева, и 4 образца, прошедших 50 циклов.

Та же картина проявляется и в группе, прошедшей 70 циклов, где первый образец проявляет умеренную повышающую регуляцию путей, в то время как остальные три образца демонстрируют умеренную понижающую регуляцию. Тем не менее, мягкая понижающая регуляция последовательно проявляется во всех четырех образцах группы, прошедшей 50 циклов пересева. Обнаруженная вариабельность достаточно последовательно проявляется в профилях активации и ингибирования зависимых от возраста сигнальных путей, что указывает на наличие дополнительных сигнальных под-путей, зависящих от определенных генов и окружающей среды, которые могут различным образом интерферировать и взаимодействовать по мере увеличения клеточного возраста.

Хронологическое старение здоровых и СПХГ фибробластов

Продемонстрировав, что дрейф активации сигнальных путей происходит во время репликативного старения фибробластов, мы решили также сравнить профили активации сигнальных путей в фибробластах, полученных от страдающих СПХГ пациентов, и в фибробластах, полученных от здоровых людей разного возраста. Взятые из 7 различных общедоступных баз данных, в зависимости от возраста донора, все образцы были разделены на четыре группы: "молодая", "средняя", "пожилая" и "СПХГ" (см. Таблицу 3.1.1). Значения САП были получены для каждого образца каждой группы.

Анализ корреляций по Пирсону демонстрирует явное сходство между "СПХГ", "средней" и "пожилой" группами (см. Рис. 3.1.2). Помимо нескольких выпадающих точек, образцы из этих трех групп плотно сгруппированы и положительно коррелируют друг с другом. С другой стороны, образцы из "молодой" группы показывают отрицательную корреляцию с тремя другими группами.

Анализ главных компонент также показывает, что "СПХГ", "средняя" и "пожилая" группы явным образом выделяются, хотя образцы группы "СПХГ" более вариабельны и в каком-то смысле они ближе к «средней» группе (см. Рис. 3.1.3А). Полученные из разных баз данных образцы, относящиеся к "пожилой" группе, образуют очень компактный кластер. В отличие от них, одна третья часть образцов из «молодой» группы обладают высокой изменчивостью САП и группируются отдельно от других образцов. Мы также подготовили диаграмму Венна, иллюстрирующую число сходных изменений в активации сигнальных путей (т.е. воздействие повышающей или понижающей регуляции) между "молодой", "средней", "пожилой" и "СПХГ" группами (см. Рис. 3.1.3Б). Сходство распределений значений САП различных сигнальных путей для данных групп были вычислены с использованием t-теста для попарного сравнения и F-тест для сравнения трех и четырех групп. В соответствии с предыдущими выводами в "СПХГ", "средней" и "пожилой" группах 13 сигнальных путей имеют сходный характер активации. Среди них AR, IGF1R, HGF, HIF1A, IP3, PAK, SMAD, TNF и TGF-бета пути подвержены повышающей регуляции, тогда как путь митохондриального апоптоза ингибируется.

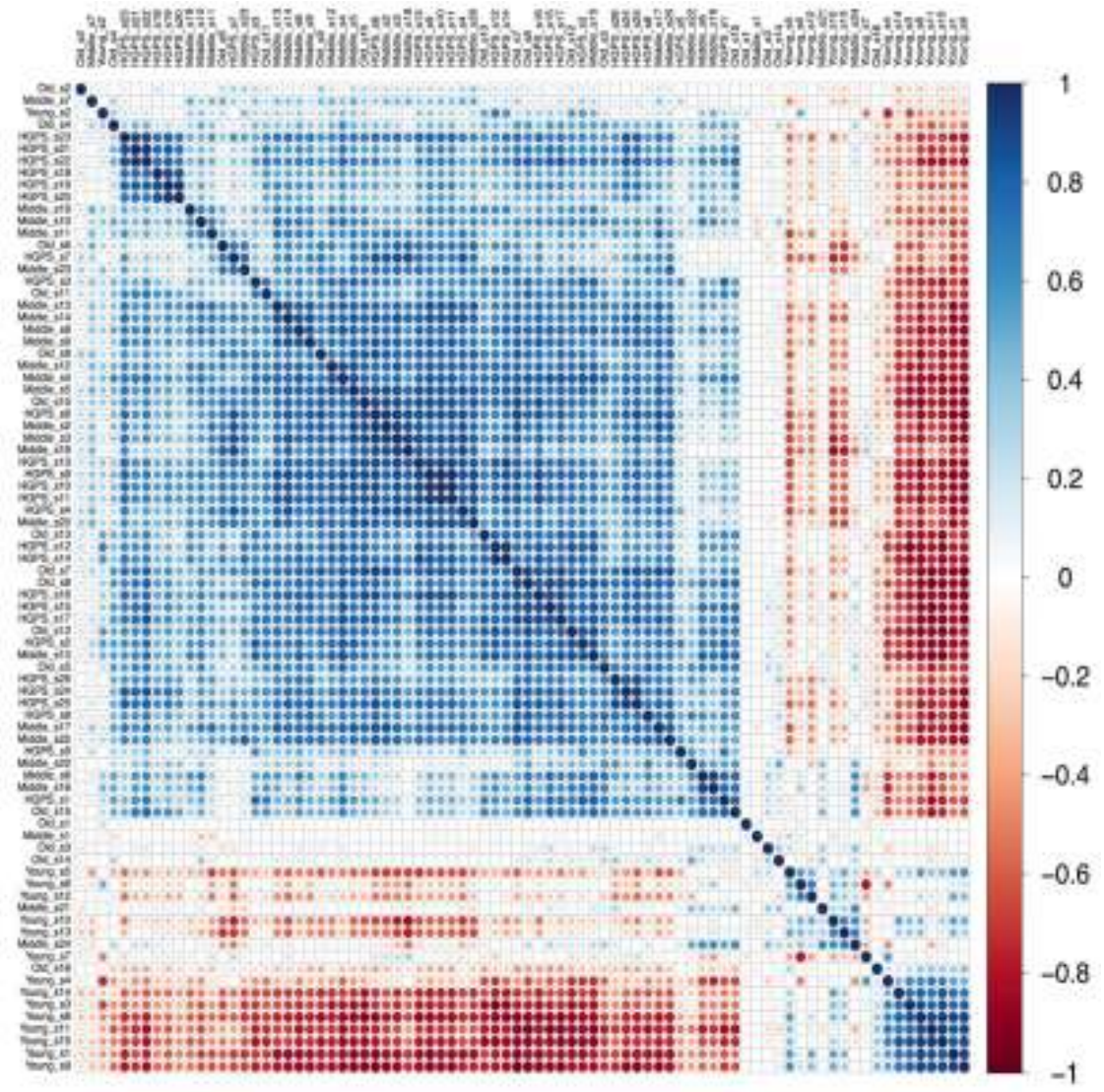

Рисунок 3.1.2. График кросс-корреляций для «молодой», «средней», «пожилой» и «СПХГ» групп фибробластов. Образцы из всех наборов данных скомбинированы и названы в соответствие с группой, к которой они относятся. Цветовая шкала показывает знак и величины коэффициента корреляции Пирсона между образцами.

Интересно, что попарное сравнение "СПХГ" и "средней" групп позволило дополнительно обнаружить еще 12 одинаковым образом активированных пути, еще раз указывая на близость этих двух групп на уровне сигналома. С другой стороны, большинство сигнальных путей в «молодой» группе не активируется аналогичным образом по сравнению с остальными исследованными группами. Следует отметить, что 5 сигнальных путей, в

основном, связанные с репарацией ДНК, демонстрируют схожий профиль незначительной активации, колеблющийся около нуля, во всех четырех исследованных группах.

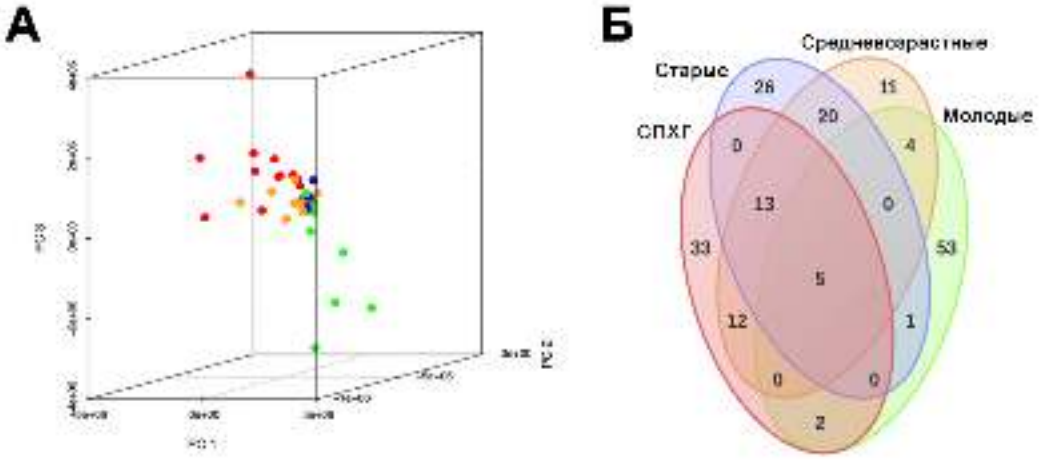

Рисунок 3.1.3. А. Значения САП для всех образцов были преобразованы в значения трех основных компонент, используя метод основных компонент (PCA). Образцы, относящиеся к «молодой», «средней» («средневозрастные»), «пожилой» и «СПХГ» группам, показаны зеленым, желтым, синим и красным цветом, соответственно. Б. Диаграмма Венна, показывающая число одинаково регулируемых (положительно и отрицательно) сигнальных путей между «молодой», «средней» и «пожилой», «СПХГ» группами. Сходство между распределениями значений САП различных сигнальных путей для двух данных групп определялось по t-критерию, для сравнения трех и четырех групп – используя F-тест.

Обсуждение

Наш анализ данных ясно показывает, что процесс старения и патофизиология синдрома преждевременного старения СПХГ являются биологическими процессами, которые регулируются через схожие сигнальные пути; оба процесса обладают сложными механизмами контроля, которые, несмотря на различия, связаны между собой. Основные изменения с возрастом проявляются, которые вовлечены в репарацию ДНК и организацию хроматина.

Количественно различающиеся паттерны экспрессии генов наводят на мысль о наличии отдельных паттернов регуляторных и структурных белков, которые участвуют в развитии признаков старения на клеточном уровне, а также на уровне всего организма. Такая качественная изменчивость в уровне экспрессии генов, скорее всего, базируется на

генетическом фоне, в то время как возникающая в конечном итоге патология возникает за счет взаимодействия между геномом и эпигеномом, а также под влиянием факторов окружающей среды и физиологического стресса.

Резюме по сигнальным путям, претерпевающим значительные изменения

Поскольку организменное старение влияет на все ткани и органы, оно, вероятно, затрагивает целый ряд сигнальных путей одновременно. Однако сама степень воздействия должна быть переменной в зависимости от ткани, о которой идет речь, а также условий, в которых протекает жизнь человека, и неожиданных экологических стрессовых воздействий. Ниже мы приводим примеры путей, претерпевающих значительные изменения, которые отчетливо видны при анализе данных (рис. 3.1.4). Они обосновывают ранее выдвинутые утверждения и демонстрируют корреляцию между процессами старения на клеточном и организменном уровне.

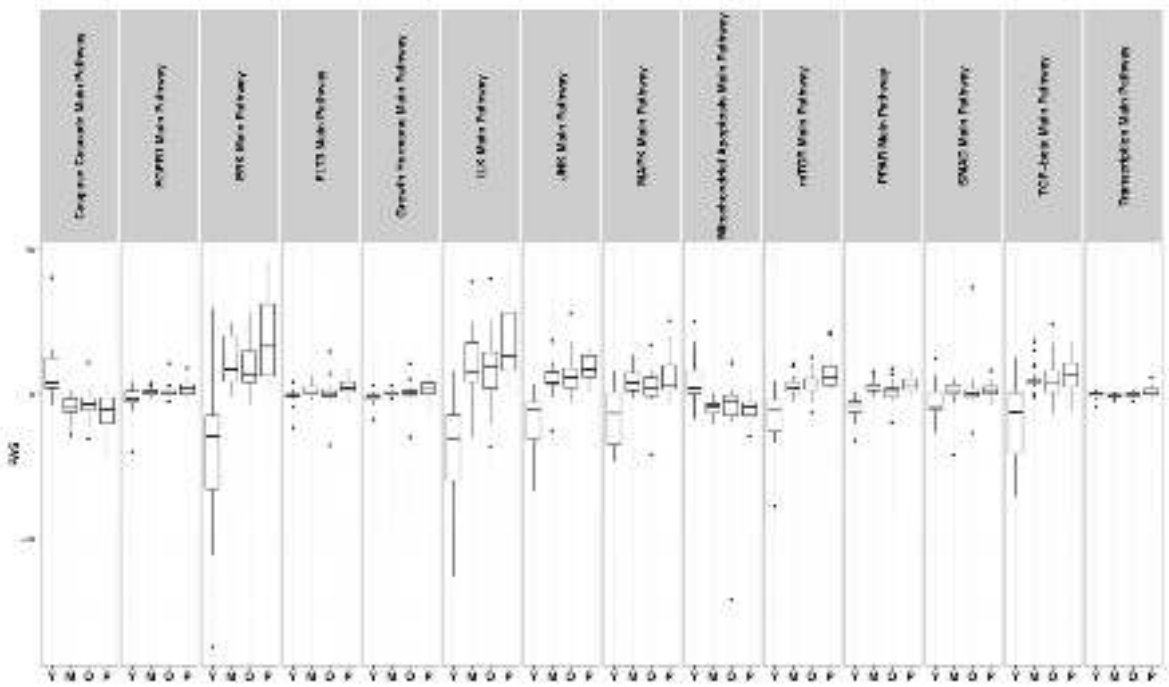

Рисунок 3.1.4. Распределение значений САП для 14 различных сигнальных путей в «Молодой» (Y), «Средней» (M), «Пожилой» (O) и «СПХГ» (P) группе.

Каспазный каскад

Первый путь, который подвергается четким изменениям в клетках по мере увеличения числа пройденных циклов деления является каспазный каскад. Действительно, клетки,

прошедшие дополнительные циклы деления, обладают профилем экспрессии каспаз, схожим с прогеретическими клеткам (см. Рис. 3.1.4). Кроме того, экспериментальные данные, полученные в опытах с мышами, показывают, что дефекты каспазы-2 усиливает специфические для старения характеристики [216]; наши данные указывают на понижающее регулирование каспазного каскада в процессе старения фибробластов.

EGFR путь

В процессе нормального заживления раны, фибробласты из окружающей неповрежденной ткани мигрируют к месту травмы/раны, где они пролиферируют и участвуют в регенерации, восстановлении тканей и заживлении раны. Тем не менее, их способность к пролиферации и миграции зависят от возраста, значительно снижаясь по мере клеточного старения [217]. Дальнейший анализ, направленный на определение основного молекулярного механизма этого явления, позволил обнаружить в стареющих фибробластах пониженную восприимчивость к эпидермальному фактору роста (EGF) в связи с преимущественной потерей рецепторов эпидермального фактора роста [218]. Нами был показан эффект старения (количество пройденных циклов пересева) на EGFR1 пути: клетки, соответствующие более старшему возрасту, обладают профилем, близким к СПХГ клеткам; та же тенденция наблюдается и в клетках, соответствующих среднему возрасту. В отличие от них, молодые клетки обладают противоположным профилем активации.

ERK путь

Ранее было показано, что ограничение калорий, заключающееся в периодическом голодании, способно замедлять развитие ассоциированной с возрастом гипертрофии сердца у крыс посредством изменений в ERK и P13K сигнальных путях [219]. В нашем анализе путей, клетки, представляющие особей среднего и пожилого возраста, демонстрируют тенденцию к активации ERK пути таким же образом, как и в СПХГ клетках, при этом следует заметить, что кардиологические проблемы являются основной причиной преждевременной смерти у больных СПХГ. Профиль активации в этих группах полностью противоположен тому, который наблюдается для молодых клеток (см. Рис. 3.1.4).

Гормоны роста и пути, ассоциированные с медиаторами

У млекопитающих гормон роста вырабатывается в передней доле гипофиза, но его вторичный медиатор – инсулиноподобный фактор роста (IGF-1) – продуцируется в различных типах клеток и имеет с инсулином один и тот же путь передачи сигнала [220]. Таким образом, он участвует в рецепции питательных веществ или, более конкретно, в реагировании на уровень глюкозы. Этот путь, как было показано, активируется в СПХГ фибробластах, и стареющие клетки в обоих, «средней» и «пожилой», возрастных группах показывают аналогичную, но несколько более слабую тенденцию к активации этого пути; то же самое справедливо для FLT3-пути, как показано на рис. 3.1.4. Для этого конкретного пути, клетки, относящиеся как к «средней», так и к «пожилой» возрастным группам показывают очень сходный профиль активации. В экспериментах *in vivo* введение лиганда гемопоэтического фактора роста FLT3 (FLT3L) приводит к уменьшению связанных с возрастом дефектов в тимусе голых мышей [221] и, следовательно, является разумным предположение, что подобный механизм действует и в культурах клеток млекопитающих, представляющих различные этапы их старения.

МАРК путь

Ранее было обнаружено, что МАРК путь приводит к увеличению уровня фосфорилирования p38 у стареющих мышей, что является ключевым регулятором воспалительного ответа в стареющих клетках [222]. В нашем анализе сигнальных путей, изменение в МАРК пути в образцах из группы «среднего возраста» и в «пожилых» образцах напоминает профиль, характеризующий клетки СПХГ; профиль в молодых клетках отличается от этих трех типов клеток.

Митохондриальная дисфункция и связанные с ней пути

Митохондриальная дисфункция ассоциируется с саркопенией, возрастным уменьшением массы скелетной мускулатуры и снижением уровня ее функции [223]. В дополнение к участию митохондрий в жизни и смерти клетки через функцию производства АТФ, митохондрии регулируют клеточный апоптоз как через внешние, так и через внутренние пути. В нашем анализе, как «пожилые», так и «среднего возраста» группы клеток демонстрируют активацию

сигнальных путей, связанных с митохондриями, также как и в прогерических клетках, несмотря на более слабое общее воздействие.

mTOR путь

mTOR путь имеет жизненно важное значение для нескольких типов клеточной активности [224] и участвует в увеличении продолжительности жизни; его ингибирование напоминает ответ на ограничение калорий [225]. Подобно прогерическим клеткам, клетки, соответствующие среднему и пожилому возрасту, показывают активацию mTOR-пути; при этом уровень активации больше в «пожилых» клетках, по сравнению с клетками «среднего возраста». Однако профиль активации в этих клетках все равно ниже, чем в клетках СПХГ, которые характеризуются не только ускоренным старением, но и значительно сниженным долгожительством.

Путь, опосредованный рецепторами, активируемыми пероксисомным пролифератором (PPAR)

Ядерные рецепторы, которые принадлежат к группе рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором (PPAR), участвуют в основных клеточных процессах дифференцировки и развития клеток, обмена веществ, а также в развитии злокачественных новообразований путем регуляции транскрипции генов [226]. СПХГ клетки ясно показывают положительную регуляцию пути PPAR, равно как и группы клеток, прошедших большое количество циклов пересева и соответствующих среднему и пожилому возрасту, которые также показывают уровень активации PPAR-пути выше порогового значения, наблюдаемого для «молодых» клеток. Тем не менее, в данном конкретном случае группа, представляющая средний возраст, также показывает значительную активацию этого пути.

Пути, ассоциированные со SMAD

Механизмы с участием TGF-β и его рецепторов, а также других цитокинов вовлечены в процессы старения кожи, а также заживление повреждений, индуцированных ультрафиолетом [227]. Инициирование TGF-β сигнального пути происходит за счет связывания молекулы фактора роста с ее рецептором, TGF-β рецептором II типа, являющимся серин-треониновой киназой. Комплекс со связанным лигандом участвует в активации TGF-бета-рецептора I типа через его фосфорилирование; активированная молекула передает сигнал далее через

фосфорилирование внутриклеточных белков, известных как Smad белки, которые участвуют в перемещении активированного комплекса в ядро, где он участвует в регуляции транскрипции генов-мишеней [228,229]. На Рис. 3.1.4 показан профиль активации группы Smad белков, обладающий поразительным сходством у «пожилых» и «СПХГ» клеток; в клетках, представляющих «средний возраст», активация следует той же тенденции, и, хотя она выражена несколько слабее, заметно отличается от профиля для молодых клеток.

TGF-β-ассоциированный путь

Различия в передаче сигналов по TGF-β пути были ассоциированы с возрастными изменениями кожи у различных этнических групп, выраженными в ряде специфических особенностей старения кожи [229]. Наш сравнительный анализ сигнальных путей показывает, что изменение в TGF-β пути в «пожилых» клетках напоминает изменения в прогерических клетках.

Транскрипция и связанные с ней пути

Модулирование процесса трансляции является еще одним путем, который, скорее всего, подвержен изменениям, связанным с возрастом. Связь ламина А с транскрипционными факторами и участие прогерина в изменениях организации хроматина являются убедительными доказательствами предполагаемой роли изменения транскрипции и связанных с ней путей в старении. Это хорошо видно на последней панели Рис. 3.1.4 для клеток, соответствующих «среднему» и «пожилому» возрасту; также отчетливо видны изменения и в клетках «СПХГ».

Заключение

Обнаруженные изменения в различных сигнальных путях, описанные выше, находятся в соответствии с ранее охарактеризованными изменениями экспрессии генов в различных клеточных линиях, первичных клеточных культурах, полученных от пациентов с СПХГ, а также от здоровых людей. Приведенные данные свидетельствуют о том, что старение клеток является необходимым предварительным условием для старения на анатомическом уровне, а общий фенотип, соответствующий состарившемуся организму, является конечным результатом клеточного старения, опосредованного старением на уровне тканей. Аналогичным образом анализ изменений сигнальных путей в фибробластах, полученных от больных СПХГ

в сравнении со здоровыми фибробластами, представляющими две различные возрастные группы, указывает на более высокий уровень изменений для каждого из рассмотренных путей в СПХГ клетках. На основании этих наблюдений можно сделать вывод о том, что СПХГ на самом деле представляет собой ускоренное старение, а не является фенотипическим подобием старения.

Так как все подобные СПХГ болезни являются моногенными, то представляется возможным обнаружить общие пути, которые, наряду с факторами окружающей среды, вызывают универсальные фенотипы старения в результате постепенного нарушения регуляции по мере старения. Несколько фармацевтических препаратов, вероятно, влияют на связанные с возрастом расстройства [230,231], а также на старение само по себе и на прогерию [232]. Для многих препаратов известны их эффекты на уровни экспрессии генов в различных клетках и тканях [233], и эта информация может быть использована для *in silico* скрининга потенциальных геропротекторов и их комбинаций. Настоящее исследование также подкрепляет гипотезу о том, что рапамицин, еверолимус и их аналоги, действующие на mTOR-путь, могут выступать в качестве геропротекторов, эффективных как при СПХГ, так и при обычном старении [232,233].

3.2. Анализ данных генной экспрессии при воздействии ионизирующего излучения в малых и больших дозах : сравнение со старением

Ионизирующее излучение является экологическим фактором, оказывающим вредный и часто непредсказуемый эффект. Мы провели биоинформатический и литературный анализ всех доступных опубликованных данных по данным генной экспрессии. Наблюдаемые закономерности описывают новые детали в механизмах побочных эффектов, связанных с воздействием ИИ в малых и больших дозах, а также сравнение со старением.

Введение

Вне зависимости от своей физико-химической природы все стрессорные агенты влияют на организмы за счет изменения функционирования клеток. Это достигается за счет изменений в функциях генома клетки, которые проявляются в виде изменений в экспрессии и активности некоторых генов [234–242]. Существует несколько путей изменения экспрессии генов, доступных стрессорам. Во-первых, непосредственно через повреждение генов, во-вторых,

косвенно через механизмы обнаружения повреждения с последующей индукцией ответа на стресс, в-третьих, путем прямого действия стрессора на компоненты внутриклеточных сигнальных машин (клеточные рецепторы, факторы транскрипции, киназы) [243,244].

Термин "генотоксичные агенты" относится к факторам, которые способны нанести ущерб молекулам ДНК, которые являются наиболее уязвимыми среди всех клеточных структур. ДНК определяет клеточную активность, т.к. кодирует все белки, в которых нуждается клетка. В то время как другие поврежденные макромолекулы, такие как белки, липиды и углеводы, могут быть заменены интактными копиями, повреждение ДНК может привести к катастрофическим последствиям. Вызывая наследуемые изменения в поколениях клеток и организмов, генотоксичные агенты влияют на частоту заболеваний человека [245,246], наследственные неблагоприятные последствия для потомства, увеличивают скорость развития рака и ускоряют старение [247,248].

В ответ на повреждение ДНК или других клеточных структур, развивается реакция на стресс, что проявляется в изменениях в уровне экспрессии определенных генов [240,241]. Для некоторых генов это может быть увеличение их активности, в то время как для других активность уменьшается. Некоторые из этих изменений имеют защитный, адаптивный характер, другие же приводят к дисфункции генома (генотоксический эффект). Можно предположить, что адаптивные изменения имеют детерминированный и воспроизводимый характер, так как они образовались в результате длительной эволюции реакции на стресс. Последствия повреждений в геноме носят стохастический характер: они зависят от локуса поврежденной ДНК, ее положения (в эухроматине или гетерохроматине), важности поврежденного гена для функционирования определенного типа клеток в течение определенного периода онтогенеза, а также от количества и степени повреждений.

Высокая вариабельность в транскриптомах в ответ на ионизирующее излучение связана с исследованием различных клеточных линий и тканей. Вместо апоптоза и пролиферации клеток, наблюдаемых после облучения высокими дозами, наиболее доминирующими биологическими реакциями после облучения в низких дозах являются передача сигналов от клетки к клетке, реакции повреждения ДНК и трансдукция внутриклеточного сигнала. Таким образом, вполне вероятно, что преобладающий ответ при высоких дозах, когда повреждение ДНК является чрезмерным или даже не поддающимся восстановлению, будет включать скорее всего запрограммированную гибель клеток. С другой стороны, при низких дозах, когда степень и характер повреждения ДНК могут сделать их более управляемыми, первичный ответ

клеток может заключаться в активации реакций повреждения ДНК и путей передачи сигнала, которые быстро реагируют на разрушение и восстанавливают его [249,250].

В данном разделе исследовалось влияние воздействия ИИ на экспрессию генов соматических клеток млекопитающих. Анализ данных по экспрессии генов является одним из наиболее всеобъемлющих подходов для определения первичного ответа клетки на стресс. Однако до настоящего времени проведено сравнительно мало исследований для оценки ответа клетки на ИИ на уровне транскрипции [249,251–254] был проведен анализ экспрессии генов облученных фибробластов AG01522 дозами малыми и большими дозами, данные по датасету из статьи [254] были сравнены с данными по репликативному старению.

Материалы и Методы

Генерация списков генов, которые увеличивают экспрессию в ответ на воздействие ионизирующего излучения в малых дозах

Списки генов были получены путем анализа литературы, которая содержит экспериментальные данные о влиянии стрессовых факторов на экспрессию генов млекопитающих (клетки человека, мыши и крысы). Использовалась база данных генов Entrez (см. Главу 2), полученные списки были приведены в соответствие с официальными названиями генов в геноме мыши. В соответствии с публикациями доза ионизирующего излучения колебалась от 0,1 до 10 сГр, что соответствует диапазону малых доз облучения [255].

Описание датасетов, используемых для оценки эффектов воздействия ионизирующего облучения

Датасеты, выбранные для анализа репликативного старения фибробластов, были те же, что и в разделе 3.1: GSE55118, E-MTAB-2086 из Lackner и др. [201].

Для анализа облученных фибробластов был выбран датасет GSE59861 [256], который содержал данные об экспрессии 1522 человеческих генов фибробластов при двух дозах рентгеновского облучения облучения: 5 сГр и 2 Гр, причем данные снимались через определенные промежутки времени 0 ч., 3 ч., 6 ч., 12 ч., 24 ч.

Каждый предварительно обработанный набор данных по экспрессии генов был проанализирован независимо от других с использованием алгоритма OncoFinder [196] как описано в разделе 3.2. Для анализа были выбраны следующие группы:

1) репликативное старение 70 циклов против 30 циклов и 80 против 30: EMTAB2086_70_vs_30 и EMTAB2086_80_vs_30 соответственно
2) фибробласты “средневозрастные” и “молодые” GSE55118_middle_vs_young
3) фибробласты “старые” и “молодые” GSE55118_old_vs_young
4) облученные фибробласты GSE59861_3h(6h,12h,24h)_2Gy(5cGy)

Для исследуемых групп были рассчитаны дифференциально экспрессированные гены, а также активированные пути, как было описано ранее в главе 3.2, при этом учитывались только те гены, данные о которых присутствовали во всех образцах.

Биоинформатический анализ функционирования генов

Все процедуры анализа и сравнения списков генов были проведены в статистической среде программирования R (версия 2.15.3). Молекулярный процесс аннотаций был выполнен на основе анализа числа перечисленных генов, принадлежащих к той или иной категории. Уровень значимости, *p-value* и ожидаемая доля ложных отклонений были рассчитаны и учтены [257].

Для анализа функций рассматриваемых генов, использовали "генную онтологию" (ГО), биоинформатический проект, посвященный созданию унифицированной терминологии для аннотации генов и генных продуктов всех биологических видов [258]. Целью проекта является сделать аннотации генов и их продуктов, а также поддерживать и обновлять список атрибутов генов и их продуктов в соответствии с категориями "биологические процессы", "биологические функции" и "структурные компоненты". Получение генной онтологии для списков рассматриваемых генов проводили с использованием пакета R BioMart [259,260]. Анализ генных онтологий, перекрывающихся для различных факторов, был проведен в среде R методом диаграмм Венна [261]. Статистическая значимость и визуализация генных онтологий для различных факторов были представлены в виде «облаков» в R пакете GOsummaries [262].

В дополнение к анализу генных онтологий, сравнения по KEGG и caBIO были проведены для сравнения функциональных характеристик генов, которые активируются при разных факторах. KEGG – метод анализа молекулярных путей, в которых участвует

конкретный ген, биологической информационный ресурс KEGG (http://www.genome.jp/kegg~~HEAD=pobj). caBIO является аналогичным проектом NCI https://wiki.nci.nih.gov/display/caBIO~~pobj. Анализ и сравнение исследуемых факторов, предлагаемых KEGG и caBIO, были сделаны в R пакете GeneAnswers [263].

Для анализа взаимодействия белковых продуктов генов, активированных в каждой группе факторов, мы использовали данные службы Thomson Reuters http://thomsonreuters.com/metacore/~~dobj MetaCore ™. В каждой группе были учтены все с научной точки зрения задокументированные взаимодействия между генными продуктами.

Результаты и обсуждение

Действие ИИ в малых дозах на клетки: анализ литературных данных и генных онтологий

В Таблице 3.2.1. представлены литературные данные о генах, которые активируются в ответ на воздействие низких доз радиации.

Из таблицы П1 следует, что ИИ активирует p53, ATM и MAPK пути в ответ на стресс, регулирующие апоптоз, клеточный цикл и производство цитокинов [264]. Излучение в малых дозах повышает экспрессию генов дифференцировки клеток и генов, участвующих в апоптозе и ответе на повреждение ДНК. Это вызывает индукцию белков теплового шока и клеточного старения.

Таблица 3.2.1. Гены, которые активируется в ответ на воздействие радиации. Названия генов выравниваются по именам в геноме мыши.

Тип воздействия	**Активируемые гены**
Ионизирующая радиация	*GPX1, SOD1, GADD45A, TRP53, MAPK8, CDKN1A, GNB2L1, BRCA1, PARP1, POLB, ERCC6, XPA, MLH1, RAD51, XRCC5, BAX, MAPK1, CASP9, FAS, ING2, LTBP1, AREG, MOS, RAF1, AGGF1, EGFR, EGR1, CD59A, EGR3, TNF, RAB6A, Zeb2, SMGC, GJC1, EIF3E, RPL24, RPS8, OAZ1, CCT6A, KLK1B21, KLK1B4, HSPA1B, HSPA8, ELOVL5, G6PC, ATP10D, ATP1B2, ACTR1A*

Анализ взаимодействий между продуктами активированных радиацией генов показало, что при ИИ EGF рецептор может быть активирован с помощью белка амфирегулина (рисунок 3.2.1).

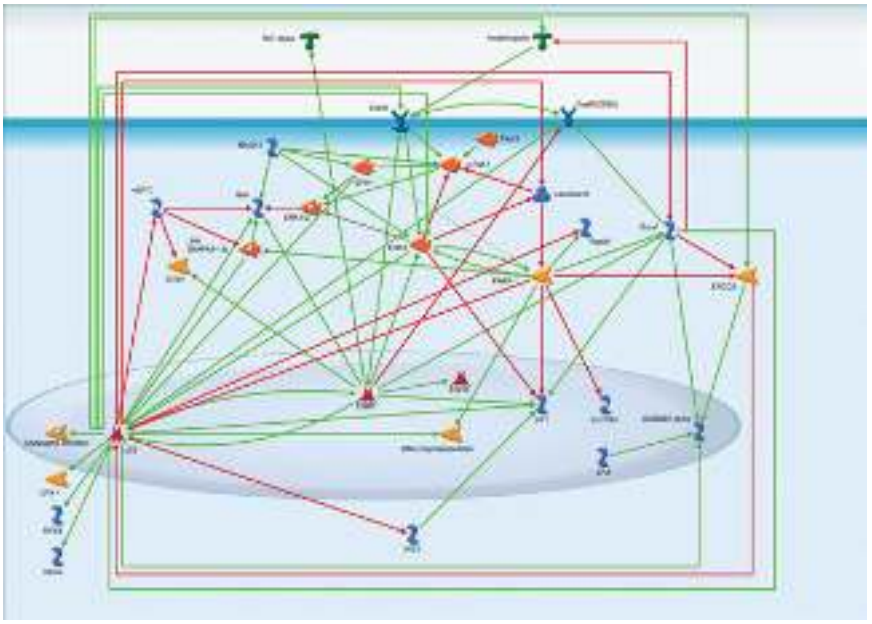

Рисунок 3.2.1 Взаимодействие между генными продуктами в группе ионизирующих излучений. Активация и ингибирование взаимодействия между белками показаны с помощью зеленых и красных стрелок соответственно.

В свою очередь, рецептор EGF передает сигнал к рецепторам Fas, c-Raf-1 и ERK2. ERK2 может передавать сигнал на p53 и бета-ДНК-полимеразы посредством активации PARP-1. *P53* выступает в качестве ключевого гена в этой группе. Он активирует другой транскрипционный фактор, egr1, который регулирует активность SOD1 [265], Bax [266], TNF-альфа [267], EGFR, ERK2, EGR3 и P21. Egr1 является одним из наиболее важных элементов в сети и принимает активное участие в ответе на стресс. p53 в связке egr1 может служить спусковым механизмом в ответе на ионизирующее излучение [268] (рисунок 3.2.1).

Анализ дифференциально экспрессированных генов и путей в клетках, облученных в дозах 5 сГр и 2 Гр

В таблице 3.2.2 приведено количество дифференциально экспрессированных генов и метаболических путей, рассчитанных при помощи алгоритма Oncofinder. Сравнение

результатов по анализу дифференциальной экспрессии генов для доз 5 сГр и 2 Гр удобно приводить во временных сериях по промежутку времени после облучения (3, 6, 12 и 24 часа, см. рис. 3.2.2. и рис. 3.2.3, таблицы П2, П3).

При дозе облучения в 5 сГр спустя 3 часа после облучения активируются гены, связанные с ремоделированием соединительной ткани, в частности, отвечающие за биосинтез липидов: церамидов, сфинголипидов и фосфоинозитолфосфата. Кроме того, была обнаружена повышенная экспрессия генов, отвечающих за развитие альвеол, а также фактора *FGF22*, отвечающего за клеточный рост и развитие [268]. Среди генов с пониженным уровнем экспрессии были обнаружены такие гены как, *CEP152*, отвечающий за сборку центриолей [269], и *DYNLRB2*, связанный с синтезом новых органелл и организацией веретена деления [270]. Анализ активации сигнальных путей показал, что активированы пути протеосомальной деградации белков, а также EGF-Rab5 путь, связанный с интернализацией эндосом и передачей целого ряда внеклеточных сигналов. В тоже время, пути, связанные с фолдингом белков и развитием цитоскелета, деактивируются.

Таблица 3.2.2. Анализ дифференциально экспрессированных генов и метаболических путей для исследуемых наборов данных.

Исследование	**Возрастные группы**	**Доза облучения, время после облучения**	**Дифференциально экспрессируемые гены, *p-value* < 0.01**	**Метаболические пути, *p-value* < 0.05**
EMTAB2086_70_vs_30	70/30 циклов	-	1676	387
EMTAB2086_80_vs_30	80/30 циклов	-	4217	1328
GSE55118_middle_vs_young	30-50/<30 лет	-	603	29
GSE55118_old_vs_young	>50/<30 лет	-	442	24
GSE59861_12h_2Gy	-	12 ч., 2 Гр	485	24
GSE59861_12h_5cGy	-	12 ч., 5 сГр	359	11
GSE59861_24h_2Gy	-	24 ч., 2 Гр	1201	108
GSE59861_24h_5cGy	-	24 ч., 5 сГр	905	41
GSE59861_3h_2Gy	-	3 ч., 2 Гр	555	44
GSE59861_3h_5cGy	-	3 ч., 5 сГр	70	0
GSE59861_6h_2Gy	-	6 ч., 2Гр	166	2
GSE59861_6h_5cGy	-	6 ч., 5 сГр	150	4

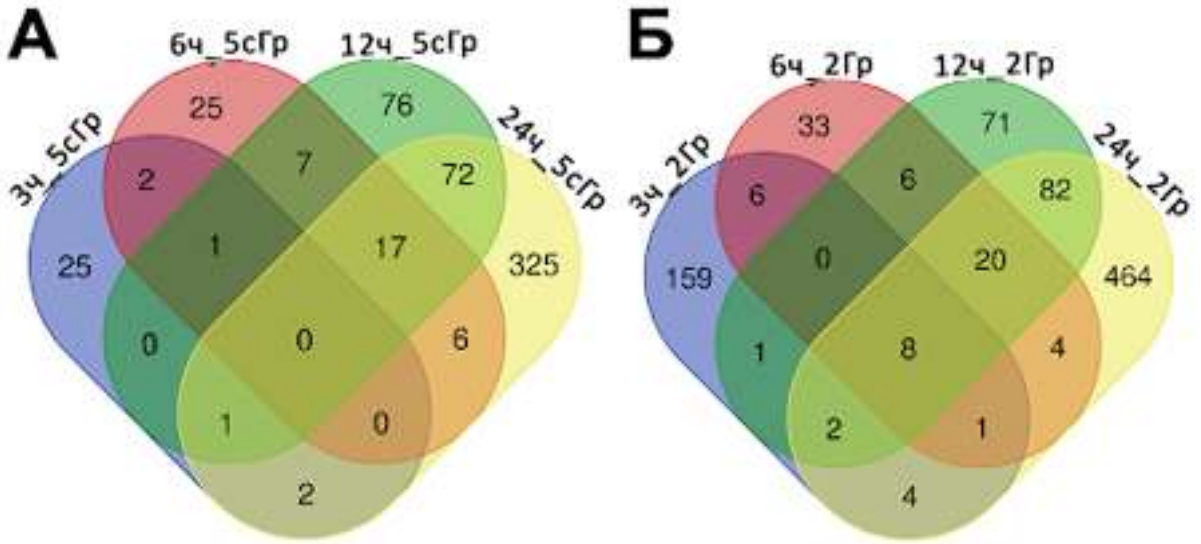

Рисунок 3.2.2. Диаграммы Венна, иллюстрирующие сравнение действия ИИ (экспрессию генов с повышенной регуляцией) через промежутки времени 3, 6, 12, 24 часа для доз в 5 сГр (А) и 2 Гр (Б). Числа обозначают количество общих/уникальных дифференциально экспрессированных генов для исследованных групп. (Таблица П2).

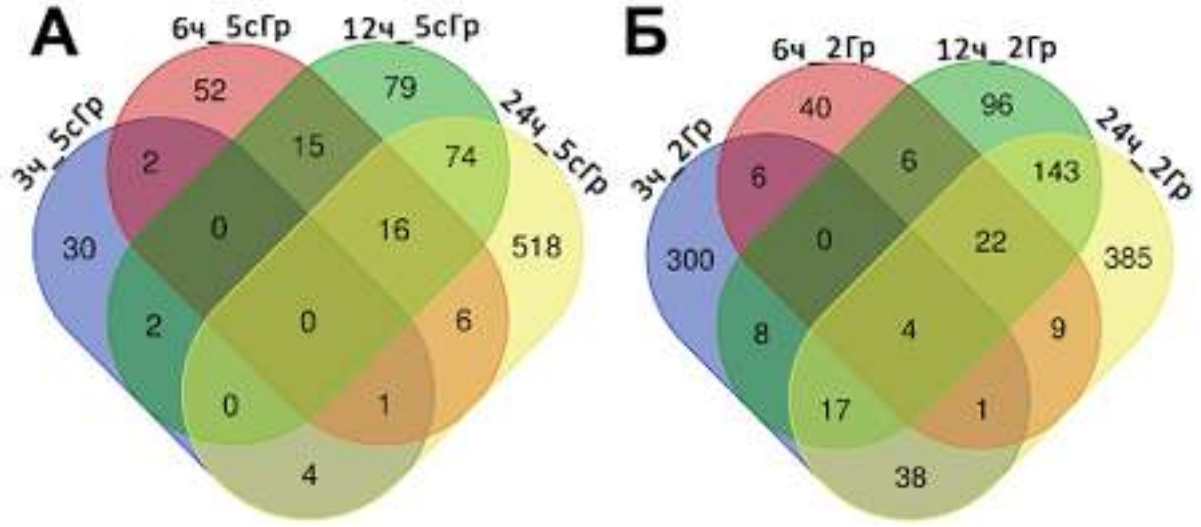

Рисунок 3.2.3. Диаграммы Венна, иллюстрирующие сравнение действия ИИ (экспрессию генов с пониженной регуляцией) через промежутки времени 3, 6, 12, 24 часа для доз в 5 сГр (А) и 2 Гр (Б). Числа обозначают количество общих/уникальных дифференциально экспрессированных генов для исследованных групп (Таблица П3).

Среди генов с пониженным уровнем экспрессии были обнаружены такие гены как, *CEP152*, отвечающий за сборку центриолей [269], и *DYNLRB2*, связанный с синтезом новых органелл и организацией веретена деления [270]. Анализ активации сигнальных путей показал, что активированы пути протеосомальной деградации белков, а также EGF-Rab5 путь, связанный с интернализацией эндосом и передачей целого ряда внеклеточных сигналов [276]. В тоже время, пути, связанные с фолдингом белков и развитием цитоскелета, деактивируются.

Через 12 часов после облучения дозой 5 сГр продолжает наблюдаться повышенный уровень экспрессии генов, связанных с программируемой клеточной смертью (*DAB2IP, SFRP2, CHAC1, RRAGC, RFFL, DDIT4, OGT, C4ORF14, ATF4, KRT36, TRAF1*), в то время как гены, связанные с репликацией ДНК (*CCNL1, CDC6, SLFN11, MSH6*), ответом на действие АФК (*DUSP1, FOS, PPIF*), переходом из G1 в S фазу (*CCNL1, CDC6, CCND1*), демонстрируют пониженный уровень экспрессии. Анализ активации сигнальных путей показывает для этой временной точки сильную положительную регуляцию пути Wnt/Notch, связанного с апоптозом, и процессов, связанных с деградацией белков [277].

Анализ активации сигнальных путей спустя 24 часа после облучения также показывает повышенный уровень активации пути Wnt/Notch. Кроме того, обнаруживается повышенная активация ряда сигнальных путей, связанных с синдеканами. Синдеканы опосредуют клеточную адгезию, организацию и перестройки цитоскелета, а также передачу сигнала в клетке, являясь ко-рецепторами для таких лигандов, как FGF, VEGF, TGFβ и фибронектин [278]. В частности, синдеканы играют важную роль в ремоделировании межклеточного матрикса и заживлении ран [279,280]. В согласии с этим, был также обнаружен повышенный уровень активации путей, связанных с рецепторами EGFR, VEGFR1 и VEGFR2, активация Hedgehog-пути, связанного с клеточной дифференцировкой [281], а также путей, связанных с положительной регуляцией клеточной адгезией и транспортом глюкозы внутрь клетки. Все это в целом свидетельствует в пользу того, что спустя 24 часа после облучения дозой в 5 сГр процессы клеточной деградации и регулируемой клеточной гибели сменяются клеточной регенерацией.

При облучении клеток фибробластов дозой в 2 Гр через 3 часа развивается классический ответ на облучение: повышается экспрессия генов *POLH*, *CDKN1A*, *MTA1*, *GADD45A*, *AEN [282]*: одновременно экспрессируются белки, отвечающие за арест клеточного цикла *CDKN1A*, *GADD45A* и ДНК-репарацию, *POLH*. Анализ данных по путям показывает, что в ответ на облучение активируются p53-опосредованный путь в ответ на повреждение ДНК,

BRCA1-опосредованный арест клеточного цикла, PI3K/Akt путь. В тоже время понижающую регуляцию испытывают пути, связанные с синдеканами и Catenin Beta 1, отвечающие за клеточную адгезию и пролиферацию [283].

Через 6 часов после облучения дозой 2 Гр продолжает развиваться ответ на стресс. В частности, запускается процесс апоптоза: *TRIAP1, PHLDA1, FAS, CDKN1A,TP53INP1* и др. Экспрессируются гены, связанные с клеточным старением (сенесцентностью): *TGFB3, DKK1, GCLC, KCNMB1, CDKN1A, DDC, MYST3* [284–286]. С другой стороны, клетки начинают активно бороться с АФК и разрывами в ДНК: синтезируется глутатион (*CHAC1, GCLC* и др.) [287], повышается экспрессия полимеразы *POLH* и фактора *PCNA*.

Спустя 12 часов продолжает развиваться апоптоз, наблюдается повышенная экспрессия генов *DAB2IP, SFRP2, ZMAT3, BCL6, TP53INP1, PHLDA3, DDIT4, TOP2A, BBC3, CDKN1A, APH1B, ATF4, SCIN*. Параллельно идет процесс ответа на облучение, как и после 6 часов, активированы гены *POLH, DDB2, TOP2A*, отвечающие за репарацию двунитевых разрывов. При этом понижена экспрессия генов, отвечающих за репликацию ДНК (*CCNE2, MCM10, GINS3, MCM3* и др.) [288], биосинтез белка и переход от G1 фазы клеточного цикла к S-фазе (*CCND1, CCNE2* и др.) [289]. Анализ активации сигнальных путей показал, что активированы пути Wnt/Notch, BRCA1 G1/S арест, p53-опосредованный ответ на повреждение ДНК, а также путь, отвечающий за деградацию белка AKAP1, участвующего в регуляции активности протеинкиназы A и ее распределения внутри клетки [290]. В частности, была показана роль AKAP1 в поддержании митохондриального гомеостаза и, через него, регуляции окислительного фосфорилирования и клеточного старения [291]. При этом наблюдается понижающая регуляция развития пререпликативного комплекса через ингибирование CDC6/ORC пути [292]. Также понижающую регуляцию претерпевают пути, отвечающие за репарацию однонитевых разрывов ДНК.

Спустя 24 часа после облучения клеток дозой в 2 Гр развивается ответ на клеточное голодание, которое приводит к расщеплению липидов (*AKR1C3*), ответ на действие АФК (*SESN1, SESN2*) [275]. В клетке развиваются процессы катаболизма, начинает развиваться аутофагия (*TRIM22, TP53INP1*) понижаются уровни транскрипция и трансляции. На уровне сигнальных путей наблюдается также резкая (как и после 12 часов) понижающая регуляция подготовки ДНК к репликации, репарации однонитевых разрывов, инициации митоза (переход от G1 к S фазе, формирование веретена деления, синтез циклинов). В то же время сенситизированы пути, связанные с апоптозом (Notch/Wnt, ATM) и арестом митоза.

При сравнении генов, экспрессируемых в одинаковое время после облучения фибробластов двумя разными дозами можно заметить (Таблицы П2, П3), что через 3 часа наблюдается всего 4 гена с повышенной регуляцией и 7 генов с пониженной регуляцией, поэтому процессы сложно сравнивать. Через 6 часов - 5 с пониженной и ни одного с повышенной. Через 12 часов для обоих процессов наблюдается снижение активности репликации и транскрипции (*KLF4, VEGFA, ZNF691, DAB2IP*), и повышение активности путей p38-MAPK и Wnt, VEGF. Спустя 24 часа повышающую регуляцию имеют гены, отвечающие в основном за разложение перекиси водорода и синтез глутатиона (защита от АФК), понижающую регуляцию испытывают гены репликации ДНК, перехода клеток из фазы G1 в S и в целом генной экспрессии.

Сравнение старения и действия ионизирующего излучения на клетки

При сравнении с датасетом по хронологическому старению фибробластов, GSE55118_old(middle)_vs_young, существенных общих процессов на уровне генов выявлено не было.

Анализ данных по экспрессии генов (рис. 3.2.4, 3.2.5) в фибробластах после облучения в сравнении с датасетами по репликативному старению фибробластов выявил следующие закономерности (ниже будут описаны только те случаи, когда дифференциально экспрессированных генов было в пересечении более 10).

Через 3 часа после облучения дозой 2 Гр при сравнении с датасетами по репликативному старению EMTAB2086_70_vs_30 и EMTAB2086_80_vs_30 была показана повышенная регуляция генов, отвечающих за передачу сигнала о повреждении ДНК посредством p53, (*BTG2, SESN2, CDKN1A, GADD45A*), а также общий ответ на стресс (*EPHA2, BTG2, SESN2, SESN1, CDKN1A, EDEM3, GADD45A*), при этом понижающую регуляцию испытывают гены, отвечающие за митотический цикл (*CNOT6, CDKN1B, PRKDC, MSH6*), в то время как ген *TAOK2*, связанный с ответом на стресс [293,294], активируется.

Через 6 часов после облучения для дозы в 2 Гр при сравнении с репликативно состаренными датасетами были выявлены общие закономерности: изменение степени активности клеток из-за нехватки аминокислот, т.н. клеточное голодание (*SESN2, SESN1, FAS, CDKN1A*), начало развития сигнала апоптоза в ответ на внешние/внутренние стимулы (*MDM2, BCL2L1, TP53INP1, CDKN1A, TNFRSF10B, FAS, BLOC1S2*), сигналы о повреждении ДНК. При этом гены, обладающие пониженной экспрессией при 2 Гр - это гены, отвечающие за разрывы

сшивок внутри ДНК цепи и репарацию ДНК (*RFWD3, ERCC3, HMGB1, FANCE, FANCL, MSH6*), для дозы 5 сГр понижающую регуляцию испытывают гены, отвечающие за клеточную пролиферацию (*EGR1, TXNRD1, TCF7L2, MRPS27, HSPD1, EPS8*).

Спустя 12 часов после облучения (2 Гр) при сравнении с репликативно состаренными фибробластами изменений (по сравнению с ответом через 6 часов) в клеточном ответе практически нет: на повреждение ДНК, опосредованное белком p53, общими также являются сигнальные белки апоптоза и ответа на радиационное облучение (*MDM2, BCL2L1, TP53INP1, CDKN1A*). Для репликативно состаренных фибробластов, облученных 5 сГр, на уровне генов появляется общий сигнал о воздействии внешнего стимула (*EGR2, SESN2, GDF15*). Понижающей регуляцией для 2 Гр обладают гены, связанные с репликацией ДНК (20 общих генов), ДНК репарации и инициации репликации/митоза (7 и 13 общих генов соответственно). Для 5 сГр понижающей регуляцией обладают гены, связанные с митотическим делением клетки. Результаты пересечения дифференциально экспрессированных генов фибробластов через 24 часа после облучения (5 сГр и 2 Гр) и фибробластов от старых пациентов, а также репликативно состаренных фибробластов представлены в таблицах П4 и П5. Спустя 24 часа после облучения клеток дозой 2 Гр в сравнении с EMTAB2086_70_vs_30 и EMTAB2086_80_vs_30 обладают повышенной регуляцией гены, отвечающие за клеточную гибель (17 общих генов), p53-опосредованный сигнал о повреждении ДНК (9 генов), а также гены, отвечающие за развитие процессов ареста клеточного деления (5 генов), и аутофагии (6 генов). Понижающей регуляцией (2 Гр) обладают гены, связанные с митотическим делением клетки (включая репликацию, формирование веретена деления и т.д.), репарацией ДНК. Для меньшей дозы в 5 сГр ответ связан с развитием MAP-киназного сигнала (4 гена), активацией других сигнальных каскадов (5 генов), понижающая регуляция обнаружения для генов, связанных с репликацией ДНК (более 30 генов), клеточным делением (15 генов), восстановлением двунитевых разрывов ДНК.

Анализ сигнальных путей показал наиболее релевантные результаты при сравнении данных по дифференциальной экспрессии/активации сигнальных путей спустя 24 часа после облучения. При сравнении репликативного старения фибробластов (датасеты EMTAB2086_70_vs_30/EMTAB2086_80_vs_30) и фибробластов после облучения дозой 5 сГр (24 часа после облучения) активируются пути, связанные с клеточным циклом и адсорбцией солей, однако после облучения дозой 2 Гр через 24 часа наблюдаются общие пути, связанные с

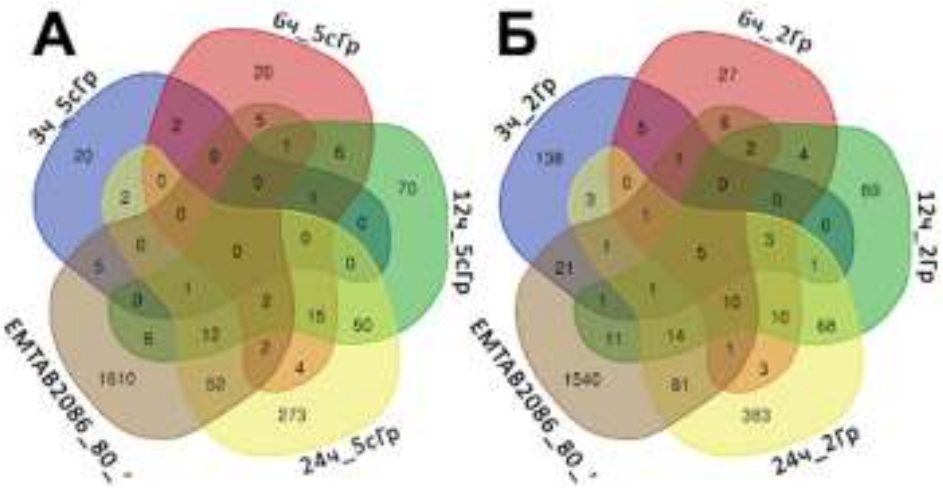

Рисунок 3.2.4. Диаграммы Венна, иллюстрирующие сравнение действия ИИ и репликативного старения, EMTAB2086_80_30, (на уровне экспрессии генов с повышенной регуляцией) через промежутки времени 3, 6, 12, 24 часа для доз в 5 сГр (А) и 2 Гр (Б). Числа обозначают количество общих/уникальных дифференциально экспрессированных генов для исследованных групп (Таблица П4).

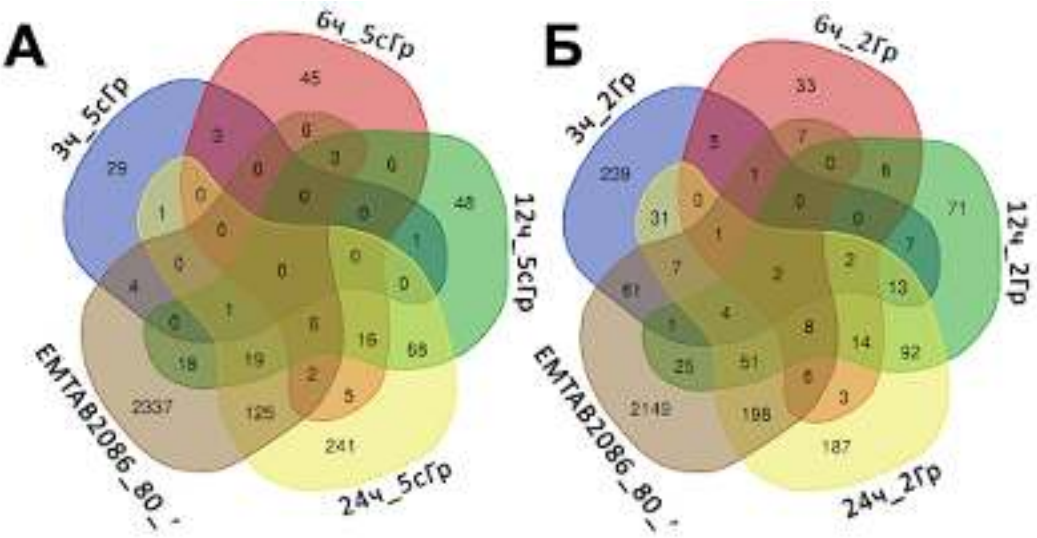

Рисунок 3.2.5. Диаграммы Венна, иллюстрирующие сравнение действия ИИ и репликативного старения, EMTAB2086_80_30, (на уровне экспрессии генов с пониженной регуляцией) через промежутки времени 3, 6, 12, 24 часа для доз в 5 сГр (А) и 2 Гр (Б). Числа обозначают количество общих/уникальных дифференциально экспрессированных генов для исследованных групп (Таблица П5).

G1/S блокировкой (арест митоза) и активация путей, связанных с ответом на повреждение ДНК (BRCA1/E2-путь).

При сравнении данных по активации сигнальных путей в фибробластах после действия ИИ с фибробластами из средневозрастной категории (GSE55118_middle_vs_young) не наблюдается пересечения путей, однако при сравнении со “старыми” (GSE55118_old_vs_young) фибробластами различия обнаруживаются. Понижающую регуляцию испытывают пути (при дозе 2 Гр), связанные с клеточным делением: разделения хромосом, разделения митотической центросомы, образования веретена деления, а также транскрипции через GATA2. При дозе 5 сГр наблюдается повышенная регуляция упомянутого выше пути развития клеточной адгезии и понижающая регуляция транскрипции через GATA2.

Результаты сравнения фибробластов, подвергнутых воздействию ИИ, репликативно состаренных фибробластов и фибробластов, полученных от пожилых людей, описанные выше, позволяют судить не только о развитии клеточного ответа на малые и большие дозы радиации, но и динамике этого процесса.

При дозе облучения 5 сГр выраженный клеточный ответ развивается лишь спустя 6 часов, при этом экспрессируются гены, связанные с арестом клеточного деления, снижается репликативная и репаративная активность ДНК, развивается ответ на действие АФК. Анализ активации сигнальных путей спустя 24 часа после облучения показывает повышенный уровень активации пути Wnt/Notch, вовлеченного в апоптоз. Однако наряду с апоптозным ответом, обнаруживается и повышенная активация ряда сигнальных путей, связанных с синдеканами, которые играют важную роль в ремоделировании межклеточного матрикса и заживлении ран, а повышенный уровень активации путей, связанных с рецепторами EGFR, VEGFR1 и VEGFR2, Hedgehog-пути, положительной регуляцией клеточной адгезией и транспортом глюкозы внутрь клетки свидетельствует в пользу того, что спустя 24 часа после облучения дозой в 5 сГр процессы клеточной деградации и регулируемой клеточной гибели постепенно сменяются клеточной регенерацией.

При дозе в 2 Гр ответ на облучение развивается уже через 3 часа, он связан с одно- и двунитевыми разрывами ДНК, при этом одновременно экспрессируются белки, отвечающие за арест клеточного цикла и ДНК-репарацию. Анализ данных по активации сигнальных путей показывает, что в ответ на облучение вследствие повреждения ДНК активируются p53-опосредованный путь, BRCA1-опосредованный арест клеточного цикла, PI3K/Akt путь. Через 6 часов после воздействия ИИ к этим признакам прибавляются гены, связанные с

защитой от АФК, клеточной сенесцентностью (старением). Через 12 часов - замедляется биосинтез белка, а спустя 24 часа после облучения развивается ответ на клеточное голодание, которое приводит к расщеплению липидов, развиваются процессы катаболизма, начинается аутофагия, понижаются уровни транскрипции и трансляции, оказываются сенситизироваными пути, связанные с апоптозом (Notch/Wnt, ATM) и арестом митоза. Таким образом, можно сделать вывод о том, что спустя 24 часа после облучения дозой в 2 Гр клетки не регенерируют, а погибают.

Сравнение облученных фибробластов с фибробластами, полученных от средневозрастных и престарелых пациентов, не позволило сделать информативных выводов. Однако из сравнения облученных клеток с репликативно состаренными фибробластами следует что:

1) В целом, на уровне генной экспрессии и регуляции сигнальных путей, фибробласты, облученные дозой 2 Гр, демонстрируют фенотип более схожий с репликативно состаренными фибробластами, чем облученные 5 сГр;
2) Через 3 часа после облучения дозой 2 Гр фибробласты (в отличие от дозы 5 сГр) приобретают некоторые черты репликативно состаренных клеток (108 и 10 общих генов соответственно), а именно развивается p53-опосредованный ответ на повреждение ДНК, ответ на стресс, а также арест клеточного цикла, снижается митотическая активность клеток;
3) Через 6 и 12 часов фибробласты, облученные дозой 2 Гр, обнаруживают уже суммарно 186 общих со “старыми” фибробластами генов (в сравнении с 96 общими генами между “старыми” фибробластами и фибробластами, облученными дозой 5 сГр). Основные общие молекулярные функции (согласно ГО) для фибробластов, облученных дозой 2 Гр, и “старыми” фибробластами: развитие апоптоза, ответ на радиацию, повреждение ДНК, клеточное голодание, ответ на действие АФК, арест митоза, понижение уровня репликации и транскрипции. Для дозы в 5 сГр общими молекулярными функциями по ГО в сравнении со “старыми” фибробластами является снижение пролиферативной (митотической) активности клеток;
4) Через 24 часа после облучения профиль генной экспрессии клеток, облученных дозой в 2 Гр, демонстрирует повышенный уровень экспрессии генов клеточной гибели, p53-опосредованного сигнала о повреждении ДНК, а также развития процессов ареста клеточного деления и аутофагии. Одновременно, пониженный уровень экспрессии

обнаруживается у генов, связанных с митотическим делением клетки (включая репликацию, формирование веретена деления и т.д.), репарацией ДНК. Для меньшей дозы в 5 сГр ответ связан с развитием MAP-киназного сигнала, понижающая регуляция обнаружения для генов, связанных с репликацией ДНК, клеточным делением, восстановлением двунитевых разрывов ДНК.

Заключение

При полнотранскриптомном сравнении репликативного старения с последствиями действия ИИ в малых и больших дозах было показано, что более схожим фенотипом к репликативно состаренным фибробластам обладают клетки, облученные дозой 2 Гр, чем дозой 5 сГр. Различия между фенотипами наблюдаются уже через 3 часа после облучения.

Наблюдаемые нами закономерности изменения уровней экспрессии генов обеспечивают новое понимание механизмов повреждающего воздействия ионизирующего излучения.

3.3. В поисках геро- и радиопротекторов.

Уровень заинтересованности научного сообщества исследованиями в области старения увеличивается, растет число известных геропротекторов и терапевтических мер, направленных на увеличение продолжительности здорового периода жизни и восстановление или частичное уменьшение связанных со старением заболеваний как в модельных организмах так и у людей. Аналогично, в связи с развитием космической отрасли увеличилась потребность в поиске эффективных веществ-радиопротекторов. На сегодняшний день существует потребность в создании актуальных БД геро- и радиопротекторов с целью индексирования их влияния на старение/радиопротекторные свойства и возраст-зависимые заболевания, а также установления связей между этими эффектами и соответствующими научными исследованиями, а также с многочисленными базами данных с лекарственным препаратам. В этой части работы описаны подобные ресурсы, Geroprotectors (http://geroprotectors.org) и Radioprotectors (http://radioprotectors.org).

В этой части диссертации также обсуждается разработанный автором алгоритм GeroScope, который представляет собой вычислительный инструмент, помогающий предсказывать новые геропротекторы на основе существующих данных по экспрессии генов человека. GeroScope позволяет картировать различия в экспрессии между образцами от

молодых и старых биологических объектов на связанные со старением сигнальные пути, а затем также осуществлять профилирование силы активации сигнальных путей для каждого из состояний. Известные вещества подвергаются скринингу и ранжируются с целью обнаружения тех соединений, которые с наибольшей вероятностью нацелены на дифференциальные пути и за счет этого имитируют "молодой" сигналом.

GeroScope был использован для создания списка из десяти веществ, которые имеют влияние на продолжительность жизни модельных животных. Шесть из этих веществ были далее протестированы на наличие геропротекторных свойств в культурах стареющих фибробластов человека. Вещество PD-98059, высоко избирательный ингибитор MEK1, продемонстрировал как эффект по продлению продолжительности жизни, так и общий омолаживающий эффект. Природные соединения N-ацетил-L-цистеин, мирицетин и эпигаллокатехин галлат также показали эффекты по улучшению показателей нескольких ассоциированных со старением свойств и были дополнительно изучены с помощью анализа сигнальных путей.

Таким образом, в этой части работы мы валидировали экспериментально не только несколько потенциальных геропротекторов, но доказали применимость алгоритмов GeroScope, Oncofinder и других методов, основанных на анализе САП, для оптимизации процесса предсказания и поиска новых лекарств с геропротекторными свойствами.

Далее были созданы две открытые БД, которые включают в себя списки геро- и радиопротекторов, а также радиомитигаторов. Geroprotectors является открытой БД, которая каталогизирует более 250 экспериментов с участием более 200 известных геропротекторов и веществ-кандидатов в геропротекторы, т.е. веществ, которые увеличивают продолжительность жизни в модельных организмах. Radioprotectors также является открытой базой данных с более чем 150 веществами, индексируемыми в таких БД как PubChem, DrugBank, FDA, clinicaltrials.gov.

Каждое соединение имеет в БД полный профиль, содержащий данные по биохимическому анализу, механизмам действия и эффектам, оказываемым на продолжительность жизни в различных модельных организмах, а также дополнительную информацию: начиная от химической структуры, побочных эффектов и токсичности и заканчивая статусом лекарственного препарата по FDA. В БД представлены ссылки на оригинальные исследования или базы данных, что обеспечивает быстрый и удобный доступ к исходным данным.

3.3.1. В поисках геропротекторов: *in silico* скрининг и *in vitro* проверка соединений-миметиков молодого здорового клеточного состояния на уровне сигналома

Введение

Внешние признаки старения, в том числе снижение функциональной активности организма и повышение восприимчивости к стрессу и болезням, связаны с набором структурных и функциональных изменений на клеточном уровне. Эти изменения варьируются в зависимости от типа ткани, регулируются генетически. В свою очередь, существуют гены, отвечающие за долголетие, или геронтогены [295]. Идентификация этих генов и экспериментальное подтверждение их активности, укрепили мнение, что старение является не только естественным процессом, но и излечимым заболеванием [296].

В настоящее время существует более 200 веществ, для которых были показаны геропротекторные эффекты на модельных организмах; они постоянно индексируется на сайте geroprotectors.org [297]. Одна из наиболее перспективных стратегий поиска геропротекторов включает выявление одобренных FDA лекарств, обладающих эффектами по продлению продолжительности жизни, и перепрофилирование их в качестве геропротекторов, разрешенных к использованию человеком. К ним относятся рапамицин [298] и метформин [299]. Тем не менее, существует целый ряд проблем, который по-прежнему препятствует широкому одобрению и использованию этих или других лекарственных средств для увеличения продолжительности жизни [300]. В частности, продолжительность жизни является сложным параметром для изучения у людей без постановки больших и длительных экспериментов, а так как эти препараты, предположительно, будут использоваться постоянно стареющими, но в остальном здоровыми людьми, величина эффекта должна быть существенной, в то время как побочные эффекты должны практически отсутствовать. Кроме того, FDA не считает старение формой заболевания, и ни один из существующих препаратов не подходит под указанные условия, поэтому необходимы новые подходы к разработке лекарств.

Процесс открытия новых лекарств является медленным и дорогим, он обременен решением многих попутных задач, и часто заканчивается неудачей как до фазы клинических

испытаний, так и после ее начала. Улучшение прогнозирования эффективности лекарств до фазы длительных экспериментальных исследований позволило бы сократить объем безрезультатных трудовых и финансовых затрат [301,302]. Большие массивы данных, существующие в настоящее время, позволяют осуществлять такое предсказание с помощью современных вычислительных методов [303]. В этом свете огромный интерес представляют базы данных с профилями экспрессии генов, например, GEO [160], а также ряд библиотек скрининга соединений [304]. Данные экспрессии генов могут быть использованы, чтобы точно определить пути-мишени, специфичные для конкретного заболевания, библиотеки соединений могут быть подвергнуты скринингу для поиска лекарств, нацеленных на эти пути.

Недавно была разработана методология, которая позволяет базируясь на существующих данных по экспрессии генов и библиотеках соединений, улучшать результаты прогнозирования целевых лекарственных препаратов [161,200]. Метод включает в себя применение алгоритма Oncofinder [161]. Сигнальные пути играют жизненно важную роль в любом биологическом процессе, в том числе в процессе старения. Характеризация активации сигнальных путей может пролить свет на механизмы старения и механизмы действия омолаживающих средств.

Oncofinder количественно оценивает силу активации путей в данном образце на основе паттернов экспрессии генов по отношению к другому образцу. Таким образом, значения САП могут быть вычислены для болезненного состояния в сравнении со здоровым состоянием. Интегральные изменения в сигнальных путях в определенном состоянии, могут затем быть использованы в качестве профиля, используемого для скрининга библиотек соединений, с целью наилучшим образом восстановить нормальное состояние активации сигнальных путей, на основе известных мишеней. Также может быть скомпилирован краткий список соединений-кандидатов, которые затем могут пройти экспериментальную проверку *in vitro*, для отбора наилучших кандидатов для дальнейших исследований [161].

В этой части работы мы использовали расширение алгоритма на основе Oncofinder для изучения старения, известное как GeroScope [200], для поиска новых геропротекторных соединений. Используя наборы данных из GEO, сначала была количественно охарактеризована активация путей, связанная с возрастом в гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клетках, полученных от "старых" (в сравнении с "молодыми") людей-доноров. Затем был спрогнозирован список соединений, которые являлись наилучшими эффекторами для этих путей, восстанавливая "молодой" клеточный профиль и продлевая

жизнеспособность клеток. Далее гипотеза была проверена экспериментально для каждого из веществ на фибробластах человека.

Материалы и методы

Алгоритм GeroScope и программное обеспечение

Транскриптомные данные для гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток, полученных из костного мозга человека, были извлечены из GEO наборов данных GSE32719 и GSE39540, соответственно. Эти наборы данных были профилированы на чипе Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 и чипе Affymetrix Human Genome U133A 2.0, соответственно. Все образцы, полученные из этих наборов данных, были разделены на две группы: "молодые", в пределах от 15-30 лет, и "старые", старше 60 лет. Молодые и старые группы состояли из 14 и 8 образцов для GSE32719 и 7 и 28 образцов для GSE39540, соответственно. Каждый предварительно обработанный набор данных по экспрессии генов был проанализирован независимо друг от друга с использованием алгоритма OncoFinder, реализованного в виде новой платформы для анализа сигнальных путей в процессе старения - GeroScope. Сигнальные пути, связанные со старением, были определены вручную из имеющейся литературы [295] и частично получены из базы данных OncoFinder, использованной в статьях [174,305] (Раздел 3.3.). Результаты для 97 ассоциированных со старением путей были получены для каждого образца и описаны в опубликованной статье [306].

БД геропротекторных препаратов и их молекулярных мишеней, используемая в данном исследовании, состояла из 70 соединений. Прогнозируемая геропротекторных эффективность препарата (GeroScore, GS) рассчитывалась следующим образом:

$$GS_d = \sum_t DTI_{dt} \sum_p NII_{tp} gARR_t gPAS_p gPAR_p \quad (3.3.1.1),$$

где d - лекарственное средство, t - белок-мишень, p - сигнальный путь.

Показатель взаимодействия лекарство-мишень (DTI) может принимать значения -1, 1 и 0, если препарат активизирует, ингибирует или не взаимодействует с белком-мишенью t, соответственно. Индекс участия узла (NII) является Булевой переменной, указывающий, присутствует ли мишень t в пути p (TRUE) или нет (FALSE). Показатель роли Активатор/репрессор (ARR) свидетельствует о роли белка t в пути, как описано в [29]. Роль пути в старении (PAR) равен 1 и -1 для ускоряющего и замедляющего эффекта,

соответственно. Затем, баллы GeroScore были рассчитаны для индивидуальных "старых" транскриптомов в сравнении с "молодыми" [306].

Для анализа сигнальных путей нескольких выбранных соединений была использована БД транскрипционных ответов, представленную проектом Lincs. Мы отбирали данные по экспрессии генов с уровнем 3 (Q2NORM) для клеточной линии PC3, с независимых тестов по инкубации с концентрации 10 мкМ каждого соединения в течение 6 часов. При анализе уровня пути, для каждой конкретной группы образцов с соединением, мы сгенерировали эталонную группу, состоящую из образцов с ДМСО, полученных в качестве образцов из "case" группы с тех же РНК-чипов . После этого, каждая "case" группа образцов независимо друг от друга была проанализирована с использованием алгоритма OncoFinder. Для каждой исследуемой группы образцов выполняется "case-reference", т.е. сравнение с использованием t-теста Стьюдента, формируется список значительно дифференциально экспрессированных генов и вычисляется сила активации пути, значение, которое служит в качестве количественной меры активации пути. Положительные и отрицательные значения САП указывают на повышающее и понижающее регулирования, соответственно. В настоящем исследовании гены с FDR-скорректированным значением $p<0,05$ считались дифференциально экспрессированными. Образцы с нулевой САП для всех путей рассматривались как незначительно возмущенные и были исключены из дальнейшего анализа.

Культивирование клеток

Нетрансформированные эмбриональные клеточные линии фибробластов легких человека FLECH-104 (20-й пассаж) был приобретены в Biolot (Санкт-Петербург, Россия, #1.5.9.1). Клетки культивировали в 75 см^2 Nunc EasYFlasks (Thermo Scientific, #156472) в EMEM среде с L-глютамином и двойными аминокислотами (Biolot, #1.3.13), 10% HyClone эмбриональной телячьей сывороткой (GE Healthcare, #SV30160.03) и 50 мкг/мл гентамицином (Biolot, #1.3.16). Флаконы с 20 мл среды для роста, инкубировали при 37 ° C и 5% CO_2. Каждые 6 дней, когда клетки почти достигали состояния монослоя, они смывались с помощью ЭДТА (Biolot, #1.2.7) и пересаживались в новые флаконы в соотношении 1:4.

Подготовка эксперимента

Для создания культуры стареющих клеток ("старой"), за 18 дней до даты проведения основного эксперимента, замороженные аликвоты с конца 23-го пересева оттаивали, и клетки

высевались во флаконах. Через 6 дней клетки снимались, их объединяли и высевали на чашки 1:4. Еще через 6 дней клетки вновь снимались, объединялись и высевали 1:4 на флаконах и 6-луночных планшетах. В результате, в день основных экспериментов клетки были в конце 26-го цикла пересева (приблизительно 52 удвоений).

Для создания молодой культуры клеток, за 9 дней до даты основного эксперимента замороженные аликвоты с конца 22 цикла оттаивали, и клетки высевали на флаконах. Через 6 дней клетки снимались, объединялись и высевались 1:2 на флаконах и 6-луночных планшетах. В результате, в день основных экспериментов клетки были в середине 24-го цикла (приблизительно 47 удвоений).

За 3 дня до даты основного эксперимента, добавлялись 20 мМ исходных растворов исследуемых веществ (все от Sigma Aldrich) в ДМСО (или только ДМСО в качестве контроля) к клеткам в разведении 1:400. Таким образом, конечная концентрация испытуемых веществ была 50 мкМ и конечная концентрация ДМСО составляла 0,25%. Каждое вещество было испытано в 4 повторах.

Эксперименты по мониторингу старения

В день эксперимента клетки в каждом флаконе снимались, и ресуспендировались в 20 мл среды для роста. 1 мл суспензии анализировали в поточном цитометре Accuri C6 (BD Biosciences, # 653118). Во-первых, жизнеспособные клетки определялись в соответствии с параметрами прямого (FSC) и бокового рассеяния (SSC), а затем записывались концентрация, размер (FSC), зернистость (SSC) и флюоресценция (FL1). 1 мл суспензии из каждой повторности объединялись, смешивались с 16 мл среды для роста и 50 мкМ испытуемого вещества, и высевали на новый флакон. Далее клетки пересевались в присутствии тестируемого вещества, после 6, 12 и 18 дней.

Перед каждым пересевом, флаконы были сфотографированы в микроскопе Axio Observer A1 с объективом A-Plan 10x / 0,25 Ph1, камерой AxioCam MRC5 с 0.63x адаптером и программным обеспечением Zen Pro (все от Zeiss). Клетки на 6-луночные планшеты, были обработаны набором для окрашивания по бета-галактозидазе (Cell Signaling, #9860) и визуализировали на следующий день с использованием микроскопа Axio Observer A1.

Результаты

Профилирование извлеченных из баз данных транскрипционных данных с помощью алгоритма GeroScope

Для того, чтобы получить список ассоциированных с возрастом сигнальных путей и отранжировать геропротекторные соединения-кандидаты, мы применили алгоритм GeroScope [200] к предварительно обработанным транскрипционным данным, полученных из 57 образцов гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека. Баллы активации сигнальных путей были рассчитаны для "старых" образцов (возраст доноров старше 60 лет) в сравнении с «молодыми» (возраст доноров от 15 до 30 лет). Далее были рассчитаны лекарственные баллы GeroScore с использованием баз данных известных геропротекторов и их мишеней. Первая десятка соединений-кандидатов, обладающих эффектами против старения, в соответствии с баллами, присвоенными GeroScores, была выбрана для дальнейшего тестирования; эти соединения приведены в Таблице 3.3.1.1.

Инкубация с испытуемыми соединениями

Чтобы проверить предсказательный потенциал алгоритма GeroScope, соединения, отобранные программой, были инкубированы с нетрансформированными человеческими эмбриональными фибробластами легких на стадии старения (“старые” клетки) в концентрации 50 мкМ в течение 3-х дней. Более “молодые” (в смысле числа прошедших циклов деления) фибробласты, в состоянии, предваряющем стадию старения (“молодые” клетки), служили в качестве контроля. Условия экспериментов (клетки + соединения) были закодированы буквами от A до J (Таблица 3.3.1.1).

Из десяти перечисленных соединений, четыре были исключены из дальнейшего анализа. HA-1004 было исключено, т.к. оказалось недоступным. Клетки с 7-циклопентил-5-(4-фенокси)-фенил-7H-пирроло [2,3-D] пиримидин-4-иламином, стауроспорином и урсоловой кислотой погибли до начала основного эксперимента и, таким образом, также были исключены.

Проточная цитометрия

Известно, что более старые клетки имеют больший размер по сравнению с более молодыми; они также содержат больше лизосом и митохондрий, демонстрируют большую

клеточную гранулярность и накапливают больше липофусцина, что приводит к увеличению клеточной автофлюоресценции [307]. После 3-х дней инкубации с исследуемыми веществами, клетки были проанализированы с помощью проточного цитометра. Жизнеспособные клетки отфильтрованы в соответствии с параметрами прямого (FSC) и бокового рассеяния (SSC), а затем их концентрация, размер (FSC), зернистость (SSC) и флюоресценция (FL1) были измерены (см. Рис. 3.3.1.1).

Таблица 3.3.1.1. Буквенные коды для различных экспериментов.

Клетки	**Соединение (международное название/русское тривиальное название)**	**Код**
молодые	-	Y
старые	-	O
старые	Nordihydroguaiaretic acid (NDGA)/Нордигидрогваяретовая кислота (НДГК)	A
старые	Myricetin/Мирицетин	B
старые	HA-1004/-	*C*
старые	7-Cyclopentyl-5-(4-phenoxy)phenyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamine/-	*D*
старые	Staurosporine/Стауроспорин	*E*
старые	Ursolic acid/Урсоловая кислота	*F*
старые	N-acetyl-L-cysteine (NAC)/N-ацетил-L-цистеин (НАЦ)	G
старые	Fasudil/Фасудил (HA-1077)	H
старые	PD-98059/-	I
старые	Epigallocatechin gallate (EGCG)/Галлат эпигаллокатехина	J

Проточная цитометрия

Известно, что более старые клетки имеют больший размер по сравнению с более молодыми; они также содержат больше лизосом и митохондрий, демонстрируют большую клеточную гранулярность и накапливают больше липофусцина, что приводит к увеличению клеточной автофлюоресценции [307]. После 3-х дней инкубации с исследуемыми веществами, клетки были проанализированы с помощью проточного цитометра. Жизнеспособные клетки отфильтрованы в соответствии с параметрами прямого (FSC) и бокового рассеяния (SSC), а затем их концентрация, размер (FSC), зернистость (SSC) и флюоресценция (FL1) были измерены (см. Рис. 3.3.1.1).

Как видно из рис. 3.3.1.1А, культура фибробластов на стадии старения (состояние O) имела значительно меньше жизнеспособных клеток, чем культура более молодых

фибробластов (Y). Большинство тестируемых соединений незначительно увеличивали жизнеспособность стареющих клеток, за исключением нордигидрогвайаретовой кислоты (НДГК), которая снижала ее. Интересно отметить, что N-ацетил-L-цистеин (НАЦ) повысил жизнеспособность клеток почти до уровня "молодых" клеток. Как и ожидалось, клетки в стареющей культуре были, как правило, больше, чем в молодой, а также с большим разбросом размеров (см. Y и O на Рис. 3.3.1.1B).

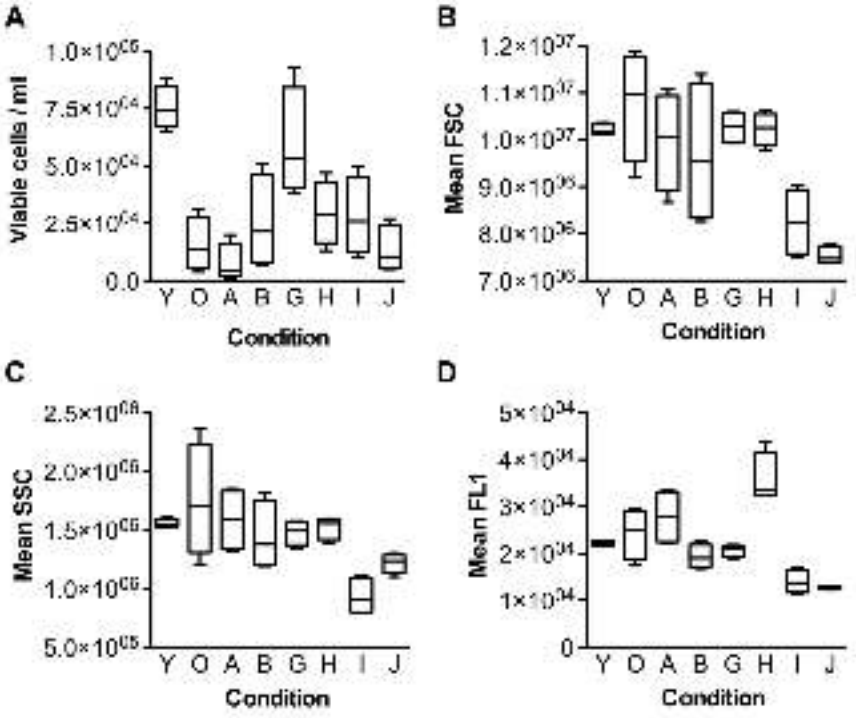

Рисунок 3.3.1.1. Цитометрические характеристики фибробластов, инкубированных с тестируемыми соединениями. (A) Жизнеспособность клеток, (B) FSC (Прямое рассеяние света) - метрика для размера клеток (C) SSC (боковой рассеянный свет) - метрика зернистости, (D) FL1 - метрика флуоресценции. Коды перечислены в таблице 3.3.1.1.

Все тестируемые вещества снижали средний размер стареющих клеток, и большинство из них также уменьшало вариабельность размера клеток. Следует отметить, что PD-98059 и галлат эпигаллокатехина снижали средний размер стареющих клеток (SSC) значительно ниже размера клеток в контроле. Изменения в клеточной зернистости были сопоставимы с изменением размера клеток (Рис. 3.3.1.1C), за исключением PD-98059, в случае которого имел место более сильный эффект, чем в случае галлат эпигаллокатехина. Аутофлюоресценция

стареющих клеток также ведет себя аналогично клеточному размеру, за исключением того, что инкубация с фалудилом привела к неожиданно повышенной автофлюоресценции (Рис. 3.3.1.1D).

Окрашивание по бета-галактозидазе

Для измерения влияния соединений на клеточное старение, мы использовали традиционный способ определения клеточного старения, заключающийся в окрашивание стареющих клеток по бета-галактозидазе при pH 6 [308]. Результаты окрашивания представлены на Рис. 3.3.1.2.

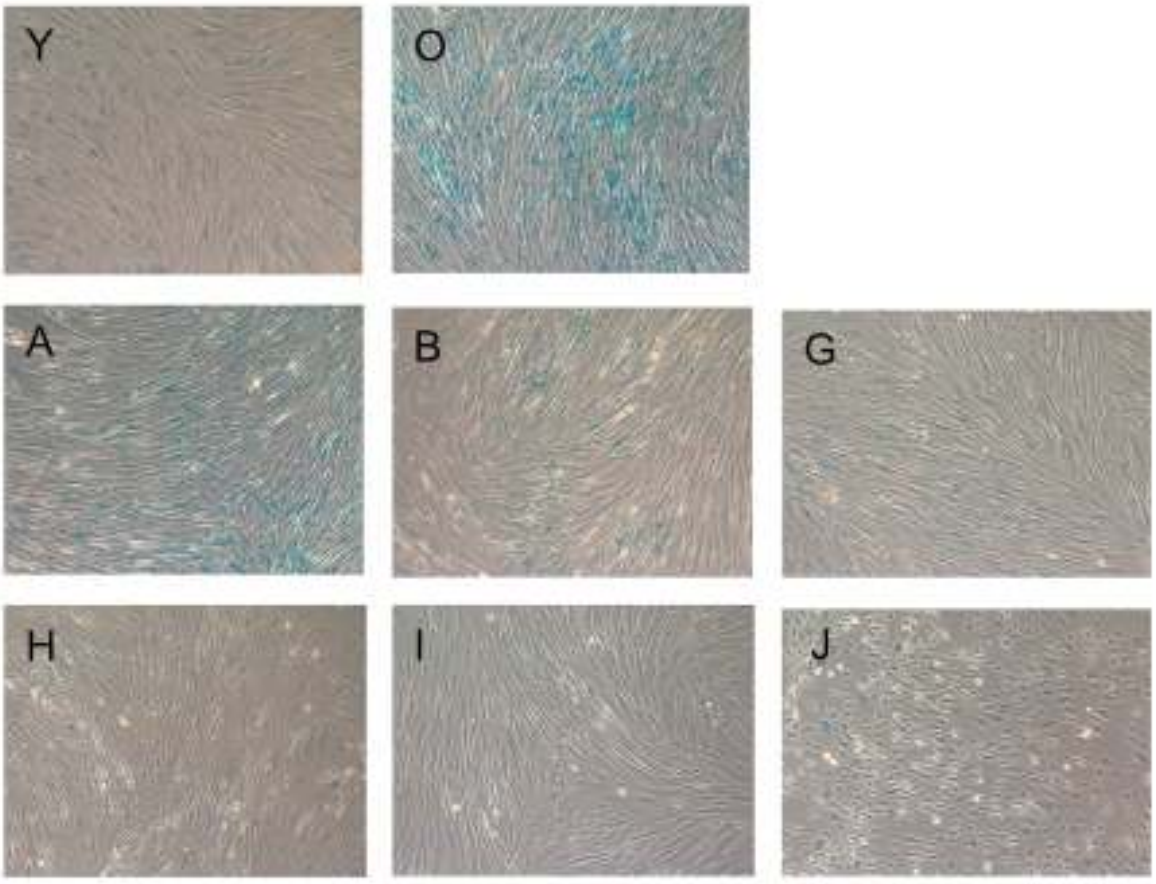

Рисунок 3.3.1.2. Окрашивание по бета-галактозидазе фибробластов после инкубации с тестируемыми соединениями. Синее окрашивание является маркером клеточного старения. Изображения названы в соответствии с буквенным кодом соединения, представленным в таблице 3.3.1.1.

По сравнению с экспериментом O (стареющие клетки), все вещества, кроме НДГК, сильно уменьшают степень окрашивания стареющих фибробластов по бета-галактозидазе. PD-98059 имеет наиболее выраженный эффект. Интересно, что фасудил и галлат эпигаллокатехин вызывают также изменение морфологии клеток на более нейроноподобную.

Долгосрочное выживание

Для того, чтобы определить влияние исследуемых веществ на долгосрочное выживание и способность к делению стареющих фибробластов, мы инкубировали клетки в течение дополнительных 3-х циклов пересева (18 дней). При каждой смене культуральной среды, тестируемые вещества добавлялись снова. Морфология и плотность клеток после 1-го, 2-го и 3-го цикла пересева можно увидеть на рисунке 3.3.1.3. Клетки в присутствии НДГК, мирицетина и галлат эпигаллокатехина погибли до 1-го цикла и не представлены.

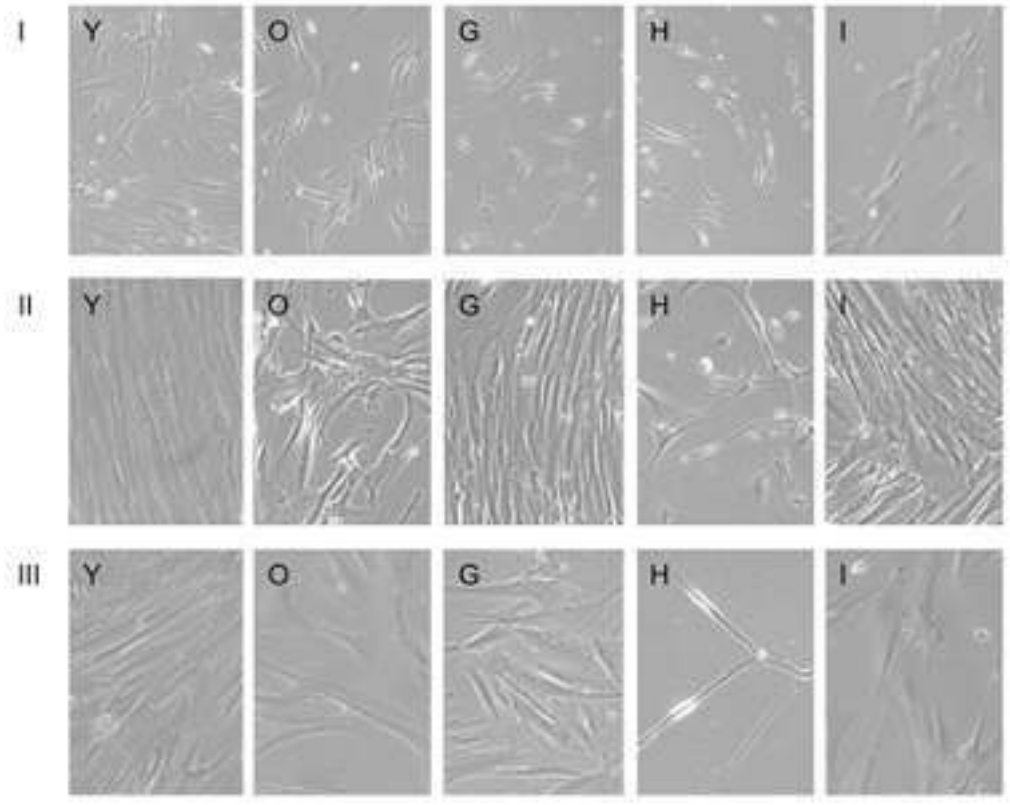

Рисунок 3.3.1.3. Долгосрочные культуры фибробластов, инкубированные с исследованными соединениями в течение дополнительных I, II и III пересевов. Изображения названы в соответствии с буквенным кодом, представленным в таблице 3.3.1.1.

Ко 2-ому пересеву стареющие клетки в присутствии веществ G и I делились, также как и молодые клетки (Y). В то же время, стареющие клетки в присутствии фасудила а также клетки без каких-либо добавок (O) делились плохо. Клетки в присутствии фасудила сохранили нейроноподобную морфологию. К 3-му пересеву у всех клеток замедлилась пролиферативная активность, а клетки, инкубированные в присутствии фасудила, стали нитевидными.

Эффекты тестируемых соединений на культуры стареющих фибробласты приведены в таблице 3.3.1.2. Как видно из таблицы, НДГК почти не влияет на фенотип стареющих фибробластов, но снижает как краткосрочное, так и долгосрочное выживание. Мирицетин судя по фенотипу клеток имеет небольшой омолаживающий эффект, но сильно снижает долгосрочное выживание. НАЦ дает очень мягкий омолаживающий эффект, но резко увеличивает краткосрочное и долгосрочное выживание. Фасудил также имеет очень мягкий омолаживающий эффект, но не влияет существенным образом на выживание клеток. Тем не менее, он индуцирует сильную аутофлюоресценцию и нейронную клеточную морфологию. PD-98059 обладает очень сильным омолаживающим эффектом и увеличивает как краткосрочное, так и долгосрочное выживание. И, наконец, галлат эпигаллокатехина также имеет очень сильный омолаживающий эффект, но индуцирует нейронную морфологию и резко сокращает долгосрочное выживание. В целом, эти результаты указывают на то, что PD-98059 обладает сильными омолаживающими и стимулирующими к выживанию свойствами среди всех испытанных веществ.

Таблица 3.3.1.2. Эффекты исследованных веществ на культуры стареющих фибробластов.

Код	Соединение	Жизнеспособность	Размер	Гранулярность	Автофлюоресценция	Бета-галактозидаза	Морфология	Выживаемость
A	НДГК	-	-/=	-/=	+/=	-/=	Норм.	---
B	Мирицетин	+/=	-	-/=	-	--	Норм.	---
G	НАЦ	+++	-/=	-/=	-/=	--	Норм.	+++
H	Фасудил	+	-/=	-/=	+++	--	Продолговатая, нейроноподобная	-
I	PD-98059	+	--	---	--	---	Норм.	+++
J	Галлат эпигаллокатехина	=	---	--	---	--	Округлая, нейроноподобная	---

Для того, чтобы исследовать механизм действия этих соединений, нами был проведен анализ сигнальных путей. Для этого мы использовали данные по транскрипционному ответу на них из базы данных LINCS1000. После обработки данных мы получили оценки активации для 97 ассоциированных со старением сигнальных путей [306]. Вещество EGCG показало сильную положительную регуляцию пути цАМФ и ингибирование митохондриального апоптоза и путей Ras. Для мирицетина была обнаружена повышающая регуляция путей ILK, репарации ДНК, цАМФ путей и пути гипоксии. С другой стороны, это соединение подавляло PAK, IL-6, MAPK пути, путь клеточного старения, p38, mTOR и ряд хемокиновых путей. NAC сильно ингибирует про-пролиферативных пути, такие как MAPK, AKT, p38 RAS, PAK, ERK и активирует p53 EGFR1, SMAD и каспазный пути.

Обсуждение

Основной целью исследования старения является изучение и обнаружение геропротекторов, веществ, которые увеличивают здоровую продолжительность жизни за счет предотвращения старения и болезней. Но поиск геропротекторов идет медленно и в основном ограничивается обнаружением эффектов на продолжительность жизни для модельных животных. Прогресс в предсказании новых геропротекторов (и активных в других областях соединений) *in silico* крайне необходим, и в настоящее время стало возможным сочетание предсказаний, сделанных *in silico* и с проверкой *in vitro* на клеточных линиях человека.

В настоящей работе мы использовали GeroScope, алгоритм, базирующийся на анализе активации сигнальных путей, для скрининга и ранжирования известных соединений, исходя из их прогнозируемой способности имитировать сигналом молодых (в сравнении со стареющими) доноров. Затем, отобранные соединения с наивысшим баллом были протестированы на наличие эффектов на культурах фибробластов. Универсальный подход на базе количественной оценки САП алгоритмами GeroScope и Oncofinder ранее показал свою эффективность в различных приложениях, включая определение биомаркеров для рака [198] и активации сигнальных пути для астмы [309], первичной и метастазирующей меланомы [305]. Он также был использован для анализа параллелей в активации сигнальных путей между патологическим и хронологическим старением в случае прогерии Хатчинсона-Гилфорда, используемого в качестве модели старения (Раздел 3.1).

Для десяти протестированных соединений, выбранных с помощью GeroScope ранее были показаны эффекты, заключающиеся в увеличении продолжительности жизни у модельных животных (таблица 3.3.1.3) [297]. Из протестированных веществ разрешенные FDA препараты включали нордигидрогвайаретовую кислоту, препарат, прошедший испытания на людях для лечения рака предстательной железы [310] и показавший увеличение продолжительности жизни у мужчин [311], и N-ацетил-L-цистеин, разрешенный FDA препарат и биологически активная добавка с большим и очень разнообразным списком эффектов [312]. Другой препарат в нашем списке, фасудил (HA-1077), еще не разрешен в США, но используется за рубежом при лечении инсульта [313], и в настоящее время изучаются его возможности применительно к повышению когнитивной способности в процессе старения [314] и как противовоспалительное средство при болезни Альцгеймера [315]. Нелекарственные, полученные из растений - это мирицетин, галлат эпигаллокатехина и катехин.

Таблица 3.3.1.3. Ранее полученные данные об эффектах на продолжительность жизни исследуемых веществ, полученные на модельных животных (скомпилировано из geroprotectors.org.)

Соединение (международное название)	**Код**	**Модельный организм**	**Параметр продолжительности жизни**	**% Увеличение**
Nordihydroguaiaretic acid	A	D. melanogaster	Медиана	23
		Mus musculus	Медиана	12
Мирицетин	B	C. elegans	Средняя	32.9
HA-1004	*C*	D. melanogaster	Средняя	18
7-Cyclopentyl-5-(4-phenoxy)phenyl-7 H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamine	*D*	C. elegans	Средняя	11
Staurosporine	*E*	D. melanogaster	Средняя	34.8
Ursolic acid	*F*	C. elegans	Средняя	39
N-acetyl-L-cysteine	G	Мышь	Максимальная	40
Фасудил (HA-1077)	H	D. melanogaster	Средняя	14.5
PD-98059	I	D. melanogaster	Средняя	27
Epigallocatechin gallate	J	C. elegans	Средняя	10.1
		Rattus norvegicus	Медиана	13.5

Большинство протестированных геропротекторов соответствует недавно опубликованным критериям, предъявляемым к геропротекторам [20]. Наилучшим геропротектором с точки зрения увеличения жизнеспособности и омоложения был PD-98059, высоко селективный ингибитор MEK1 и MAP-киназного каскадов [63]. Для ингибирования MEK наряду с торможением PI3K ранее была показана способность замедлять клеточное старение через mTOR/S6 сигнальный путь, который является известной мишенью для ряда омолаживающих средств [64], но не для PD-98059 [65]. PD-98059 обладает антипролиферативной активностью при колоректальном раке в сочетании с рапамицином [65, 66], он также имеет терапевтический потенциал при атеросклерозе [67] и болезни Альцгеймера [68]. MAPK является одним из наиболее важных путей в репликативном старении. Он опосредует индукцию p16INK4A, ключевого биомаркера и регулятора клеточного старения [69], и в последнее время он был определен в качестве мишени, способной успешно обратить вспять престарелый фенотип Klotho-мышей [70].

Помимо PD-98059, большинство из изученных геропротекторов действовали на жизнеспособность клеток либо на их старение. Наиболее значимые эффекты потенциальной синергии наблюдались для НАЦ, мирицетина и галлата эпигаллокатехина.

Синергетические эффекты

EGCG является известным флавоноидным антиоксидантом с противораковой [71] и антидиабетической [72] активностью. На уровне сигналома он показывает сильную активацию цАМФ пути, для которого недавно была показан “омолаживающий” эффект, сходный с эффектами ограничения калорийности через повышающую регуляцию сиртуинов [73]. В настоящей работе показано, что галлат эпигаллокатехина уменьшает размеры клеток, зернистость и флуоресценцию репликативно стареющих фибробластов.

НАЦ, как известно, защищает клетки от стресса и подавляет воспаление через подавление NF-kB, COX-2 и ряда провоспалительных цитокиновых путей [74, 75]. Геропротекторное действие НАЦ, предсказанное и обнаруженное в работе, согласуется с несколькими другими исследованиями, показавшими его положительный эффект при старении на других клеточных моделях индуцированного старении [76-78]. Анализ сигнальных путей, подтвердил его антисенесцентные свойства, т.к. он ингибирует про-пролиферативную сигнализацию: MAPK, p38, AKT, PAK, ERK и активированный p53 пути. Среди тестируемых

соединений НАЦ имеет наилучшие показатели с точки зрения жизнеспособности клеток, достигающей значений, характерных для молодых фибробластов.

Естественный флавоноид мирицетин считается очень сильным антиоксидантом, противовоспалительным и противоопухолевым агентом [79]. Он непосредственно взаимодействует с тирозинкиназными рецепторами, в частности JAK1, он влияет на инсулиновый рецептор, сигнализацию через EGFR и AR [80, 81]. В настоящей работе впервые показаны геропротекторные свойства мирицетина на репликативно стареющие клетки человека. Мы показали, что на уровне путей он сильно ингибирует Pak, MAPK, MPM, путь клеточного старения и ряд хемокиновых путей. Активация PAK пути была связана с преждевременным старением через вышеупомянутые p16INK4A и MAPK каскады [82], следовательно, его понижающая регуляция может оказаться очень полезным в геропротекторном плане. Мирицетин также активирует ILK, путь гипоксии и, подобно EGCG, цАМФ путь.

Каждое из этих трех исследованных соединений на уровне путей охватывает определенную сторону процесса старения и некоторые эффекты являются общими для соединений: галлат эпигаллокатехина и мирицетин активируют цАМФ путь; мирицетин и НАЦ ингибируют про-пролиферативный сигнализацию за счет MAPK, p38, PAK и AKT, причем эффект НАЦ на эти пути был сильнее. Сочетание этих соединений в правильной дозировке может обладать синергетическими эффектами и оказаться еще более выгодным, по сравнению с их индивидуальным использованием.

Таким образом, в данной части исследования были продемонстрированы геропротекторные эффекты нескольких известных веществ, но и сформулированы новые подходы к предсказанию и открытию геропротекторов, включающие оценку и скрининг, валидацию и оценку безопасности новых геропротекторов. Предложенный подход иллюстрирует потенциальную важность анализа сигнальных путей, методов, базирующихся на САП.

3.3.2. Базы данных geroprotectors.org и radioprotectors.org

Geroprotectors.org

Использование геропротекторов - это мера, направленная на предотвращение, замедление или обращение вспять процессов старения в модельных организмах или у людей

таким образом, чтобы продолжительность жизни, и особенно здорового периода жизни, были продлены. Эти средства могут быть ориентированы на любой из множества сигнальных или метаболических путей и генных сетей, вовлеченных в процесс старения. Хотя большинство из геропротекторов были испытаны лишь на модельных организмах, в общем и целом на настоящий момент известны сотни таких соединений [316–321]. Таким образом, многие из них сейчас являются объектами пристального изучения, и на самом деле, существует необходимость в каталогизации и классификации подобных средств в централизованном хранилище, а также в создании критериев для четкого определения геропротекторов.

В настоящее время существует несколько функциональных подходов к определению изменений, которые происходят в процессе старения, и их паттернов, общих для как для старения, так и для болезней [174,322]. Один из подходов состоит в выявлении геропротекторов, которые сводят к минимуму патологические изменения на различных уровнях организации организма. Другие подходы могут включать в себя поиски и тестирование соединений, которые способны задерживать или предотвращать возникновение рака, патологий ЦНС и других заболеваний, связанных с возрастом [323–325]. Существует явная необходимость в системе отслеживания, которая позволит сохранить знания о потенциальных геропротекторах, доступных к настоящему моменту, и, при этом, предоставит основу для оценки возможных геропротекторных эффектов в организме человека.

Система, которая позволяет отслеживать эксперименты, связанные с продолжительностью жизни, и различные свойства отдельных геропротекторов, например, их побочные эффекты, токсичность и результаты предыдущих клинических испытаний, будет служить хорошей отправной точной для ученых, планирующих эксперименты по исследованиям увеличения продолжительности жизни или пытающихся подтвердить теоретические предсказания. Для достижения цели систематизации и хранения данных был создан курируемый вручную портал Geroprotectors.org, интерактивная база данных, которая обеспечивает мгновенный доступ к вышеперечисленным геропротекторным средствам.

В настоящее время на портале geroprotectors.org отслеживаются только лекарства, для которых были показаны эффекты, связанные с продлением продолжительности жизни в модельных организмах. Однако, так как некоторые из препаратов, которые эффективны против ассоциированных со старением патологий у человека, могут также выступать в качестве геропротекторов [316,326], они также могут быть включены в базу данных в будущем. Эти препараты могут быть включены в БД с использованием формы "submit".

Radioprotectors.org

Несмотря на многочисленные усилия, направленные на создание условий для колонизации человеком космического пространства, до сих пор мало внимания уделяется методам защиты космонавтов от космического излучения. Поиск новых радиопротекторов - амбициозная задача, т.к. повышение радиорезистентности человека для колонизации других планет и освоения космоса становится насущной проблемой в свете последних успехов космической промышленности. Усиление регуляции эндогенных репарационных и радиопротекторных механизмов, возможных путей генной терапии с целью повышения радиорезистентности, модификация репарационных механизмов ДНК, замещения органических молекул укрепленными изоформами, методов замедления метаболической активности при сохранении когнитивной функции - важнейшие задачи современной радиобиологии [327]. Создание БД по радиопротекторам - необходимость, которая продиктована современным развитием науки и технологии. Мы создали БД Radioprotectors.org, содержащую актуальный список веществ, обладающих доказанными радиопротекторными свойствами.

Радиопротекторы (радиозащитные средства) - это медикаментозные препараты или рецептуры, которые при введении в организм перед его облучением оказывают высокое защитное действие (Рисунок П1). Радиопротекторами являются химические соединения, получаемые синтетическим путем или выделяемые из некоторых продуктов биологического происхождения. Их защитное действие проявляется меньшим поражением при облучении радиочувствительных тканей и более быстрым их постлучевым восстановлением, что в целом приводит к снижению степени тяжести лучевого поражения. Применение радиопротекторов после облучения, как правило, неэффективно [328]. Радиомитигаторы - это вещества, применяемые после облучения, способные уменьшить его негативный эффект ИИ. К радиомитигаторам относятся, например, такие вещества, как ингибиторы рецептора TGF-β, ингибиторы протеаз, ингибиторы COX2 и другие [329]. Таким образом, радиомитигаторы нивелируют негативные последствия от гибели митотических клеток и повреждения ДНК, снижают активность цитокиновых каскадов, снижая уровень повреждения сосудов, гипоксии тканей и фиброза [330].

Повышение радиорезистентности тканей можно добиться с помощью препаратов, влияющих как на первичные радиохимические реакции, так и на защитные механизмы самого организма или же на то и другое одновременно [331].

Возможны следующие механизмы защитного действия радиопротекторов [332]:

- конкуренция за сильные окислители и свободные активные радикалы, образующиеся при облучении тканей и особенно при радиолизе воды (перекисные или гидроперекисные радикалы);
- увеличение содержания в тканях эндогенных тиоловых соединений;
- образование смешанных дисульфидов и временная обратимая связь их;
- образование временных обратимых связей с радиочувствительными группами жизненно важных ферментов или другими белковыми молекулами, что обеспечивает их защиту в момент облучения;
- образование прочных соединений с тяжелыми металлами, обеспечивающими ускоренное течение цепных реакций окисления;
- миграция избытка энергии с макромолекулы на радиопротектор;
- торможение цепных реакций окисления;
- поглощение вторичного ультрафиолетового излучения, возбуждающего макромолекулы типа нуклеиновых кислот;
- повышение устойчивости и мобильности защитных механизмов организма;
- угнетение обмена веществ;
- детоксикация или ускоренное выведение из облученного организма токсических продуктов.

Однако, в природе нет такого химического препарата, который обладал бы всеми вышеперечисленными свойствами: радиопротекторы относятся к самым различным классам химических соединений.

В настоящее время все радиозащитные препараты можно разделить на две большие группы, различающиеся по своей эффективности в зависимости от вида облучения. Первую из них составляют радиопротекторы, высокоэффективные при остром и некоторых видах относительно непродолжительного облучения. Это радиопротекторы преимущественно кратковременного действия. Их защитная активность в зависимости от свойств и способов применения проявляется уже через несколько минут или максимум к концу первого часа после введения, но ограничивается 0,5-5 часами. У радиопротекторов этой группы наиболее высокий

уровень защитного эффекта обычно наблюдается при их введении в максимально переносимых дозах, которые вызывают сдвиги в обмене веществ радиочувствительных клеток. Вторую группу составляют радиопротекторы пролонгированного действия (радиомитигаторы). Эти препараты эффективны при протяженном во времени (пролонгированном) и фракционированном (дробном) облучении. От острого воздействия ИИ они также защищают, но в меньшей мере, чем радиопротекторы кратковременного действия. Продолжительность защитного действия у радиопротекторов пролонгированного действия может составлять от одних до нескольких суток. Радиозащитный эффект этих препаратов в основном связан с механизмами повышения общей неспецифической резистентности организма [333,334].

Радиопротекторы кратковременного действия в зависимости от начальных механизмов защитного действия и химической структуры делятся на следующие группы [331]:

- восстановители, к которым относятся серосодержащие соединения (цистеин, меркаптоэтиламин, цистамин, цистафос, гаммафос и др.), антиоксиданты (аскорбиновая кислота, витамин Е, токоферолы и др.).
- препараты, вызывающие гипоксию клеток и тканей (индолилалкиламины, метгемоглобинобразователи, цианиды, азиды, нитриты и др.).

Радиопротекторы пролонгированного действия включают в себя:

- препараты с анаболическими свойствами (прежде всего с эстрогенной активностью).
- полимеры полианионной природы (гепарин, хондроэтинсульфат и другие полисахариды, нуклеиновые кислоты, полинуклеотиды и их производные, некоторые вакцины, синтетические полимеры).

Для поиска радиопротекторов и радиомитигаторов (далее - радиомодификаторов) был осуществлен поиск по соответствующим ключевым словам по базам данных Pubchem и Drugbank, а также текстовый поиск по базе Pubmed. Информация о химических и физико-химических свойствах радиомодификаторов была извлечена из базы Pubchem. В БД radioprotectors.org описано в общей сложности 150 соединений, также на сайте присутствует форма “submit” для пополнения списков вручную.

Мотивацией для создания баз данных Geroprotectors и Radioprotectors послужило желание создать ресурсы для исследователей, заинтересованных в изучении химических веществ, обладающих геро- и радиомодификаторными эффектами и желающих сэкономить время, необходимое для анализа данных, обзора научной литературы и ее экспертного анализа.

В результате, нами была создана платформа для сравнения эффектов этих соединений между разными видами и в различных исследованиях. Интерфейс был разработан таким образом, чтобы сделать его интуитивно понятным для быстрого, не требующего дополнительных усилий обзора геро- и радиомодификаторных соединений, со ссылками на оригинальные исследования и другие базы данных для тех пользователей, которые ищут более подробную информацию. Для каждого соединения был создан отдельный профиль, включающий детали о его биохимической и биологической активности, эффектах на продолжительность жизни (или опровержения наличия таких эффектов)/радиомодификаторных свойств, токсичности и побочных эффектах, а также его текущий статус в качестве разрешенного лекарственного препарата. На рисунке 3.3.2.1 представлен визуальный обзор содержания, источников данных и возможных путей использования базы данных Geroprotectors пользователем. Аналогичная архитектура использовалась и для создания ресурса Radioprotectors.

Анализ экспериментов, связанных с геропротекторными соединениями

Geroprotectors.org

База данных резюмирует результаты более чем 250 экспериментов с участием более чем 200 геропротектных соединений. Каждое исследование было выбрано вручную из существующей биомедицинской литературы путем поиска в БД PubMed с использованием ключевых слов, имеющих отношение к фармакологической активности в процессе старении. Затем из соответствующих источников были извлечены эффекты на продолжительность жизни и условия экспериментов (например, возраст, пол, питание, вид модельного организма). В параметр “продолжительность жизни” включали среднюю, медиану и максимальную продолжительность жизни, а также уровень снижения смертности. Они были введены в БД Geroprotectors в виде таблицы, и это облегчает перекрестное сравнение организмов и кросс-анализ результатов различных исследований.

Все записи в Geroprotectors имеют ссылки на оригинальные публикации, что делает доступ к исходным необработанным данным быстрым и удобным. Для любого данного соединения, ссылки на соответствующие исследования можно получить непосредственно из результатов поиска или внутри профиля соединения на вкладке "Эксперименты по Продолжительности Жизни", которая содержит удобную и наглядную сводку

экспериментальных условий и результатов. Были выбраны следующие критерии включения исследований в БД:

(1) Статьи должны содержать четкую информацию о виде модельного организма, тестируемых соединениях, условиях экспериментов, возрасте организмов и результатах.

(2) Эксперименты проводились на многоклеточных и/или одноклеточных организмах. *In vitro* исследования были исключены из рассмотрения, чтобы избежать вопроса о соответствии репликативного и хронологического продления жизни *in vitro* и продления жизни целого организма.

(3) Проводились эксперименты с использованием штаммов дикого типа, чтобы избежать модельных животных с мутациями, предрасполагающими их к определенной патологии.

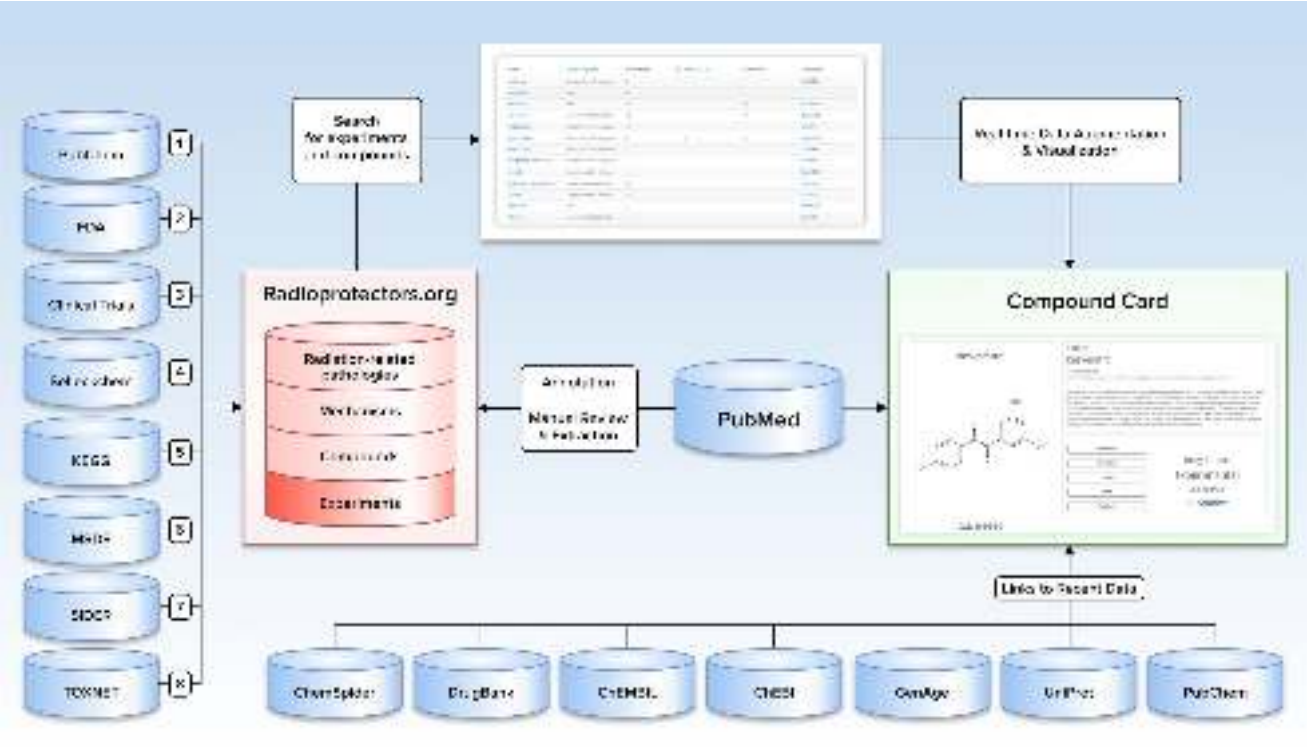

Рисунок 3.3.2.1. Содержание, источники данных и предполагаемый путь использования пользователем базами данных Geroprotectors.org и Radioprotectors.org.

Статьи, опровергающие эффекты влияния веществ-кандидатов на продолжительность жизни, были также включены, чтобы обеспечить объективность для пользователей и позволить им самим интерпретировать любые противоречивые результаты. Такие статьи перечислены в секции "Противоположный эффект" на странице "Эксперименты по Продолжительности Жизни".

Radioprotectors.org

Radioprotectors.org является уникальной базой данных, находящейся в открытом доступе в сети Интернет. БД предоставляет информацию об радиопротекторах и радиомитигаторах, содержит более 150 соединений и обобщает ключевые данные об этих соединениях в одном месте. Эта БД обладает быстрой и простой навигацией, имеет интуитивно понятный интерфейс. Информация интегрирована в БД из рецензированных исследований и баз данных химических соединений/лекарственных препаратов, и связана между собой, обеспечивая быстрый и удобный доступ к оригинальным публикациям. Особое внимание уделено подробному и тщательному описанию каждого вещества с учетом фармакологических свойств и механизма действия. Radioprotectors.org предоставляет ценный источник актуальной информации для исследователей, заинтересованных проблемой защиты человека от радиационных воздействий, а также изучающих воздействие различных видов излучения на жизнедеятельность и функционирование живых организмов и клеточные механизмы устойчивости к индуцированным радиацией повреждениям.

Для ряда радиомодификаторов была также получена информация о пертурбациях генной экспрессии, вызванных инкубацией клеток с данными веществами. Эти данные были получены для 51 из более чем 150 обнаруженных соединений из базы данных LINCS L1000. Для некоторых соединений были доступны данные, полученные с использованием нескольких клеточных линий, в таких ситуациях предпочтение отдавалось наиболее представленной среди всех образцов клеточной линии A375 (злокачественная меланома человека). Время инкубации клеток с соединением (в концентрации 10 мкМ) для всех образцов составляло 6 часов. Дифференциально экспрессированными генами считались гены с FDR-скорректированным значением $p<0,05$. Для определения молекулярных механизмов действия радиомодификаторов был также проведен анализ генной онтологии и анализ активации сигнальных путей.

Анализ возмущения генной экспрессии, вызванного инкубацией клеток с радиомодификаторами, показал, что из 51 проанализированного вещества 26 радиомодификаторов вызывают клеточный ответ на транскриптомном уровне (т.е. была обнаружена статистически значимая пертурбация уровня экспрессии хотя бы одного гена, эти вещества представлены в таблице 3.3.2.1), в то время как остальные вещества не оказывали на экспрессию генов статистически значимых эффектов в концентрации 10 мкМ и при инкубации

в течение 6 часов. Это позволяет предположить, что действие этих веществ не связано с клеточным ответом на транскриптомном уровне.

Анализ главных компонент профилей генной экспрессии для веществ из табл. 3.3.2.1 с последующей иерархической кластеризацией показал, что большая часть соединений (21 из 26) образуют один компактный кластер, что подразумевает, что они вызывают схожий клеточный ответ на транскриптомном уровне (рис. 3.3.2.2). Тем не менее, ряд соединений (метотрексат, трихостатин А, гликозид кверцетина, мизопростол и эллаговая кислота) выбиваются из центрального кластера (показан красным на рис. 3.3.2.2), что может свидетельствовать об особых молекулярных механизмах радиопротекторного действия в случае данных веществ. Например, трихостатин А - это ингибитор гистоновых ацетилаз, метотрексат - ингибитор JAK/STAT пути, кверцетин выступает в роли сенолитика в сочетании с доксорубицином, эллаговая кислота обладает множественным действием на клетку, в т.ч. антиоксидантным, а мизопростол - аналог простагландина Е.

Из всех дифференциально экспрессированных генов 44 были идентифицированы для 3 и более радимодификаторов, что позволяет говорить о схожих молекулярных механизмах их действия. Список этих генов приведен в таблице 3.3.2.2. Анализ генных онтологий показывает, что данные гены отвечают за регуляцию клеточного цикла, ответ на внеклеточные сигналы, отрицательную регуляцию биологических процессов и ответа на внеклеточные стимулы, регуляцию программируемой клеточной смерти, в частности, апоптоза, ответ на уровень питательных веществ и голодание, клеточный ответ на стресс. Кроме того, для 9 из этих генов была обнаружена прямая связь с радиорезистентностью на базе литературных данных. Эти гены, включая ссылки на соответствующие источники, приведены в таблице 3.3.2.3.

Полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы для предсказания новых еще не изученных в качестве радиопротекторов. Из таблицы 3.3.2.1 видно, что несколько веществ, такие как рапамицин, ресвератрол, куркумин и др. являются также геропротекторами (см. ниже). Это позволит сравнить действие веществ на уровне генной экспрессии и определять сходство механизмов действия радио- и геропротекторов на уровне сигнальных путей.

При анализе радиомодификаторов, вызывающих клеточный ответ на уровне генной экспрессии, были выявлены следующие закономерности (ниже будут учтены те вещества, у которых было обнаружено 10 и более дифференциально экспрессированных генов). Вещество карбонилцианид m-хлорфенил гидразон (CCCP) является ингибитором окислительного

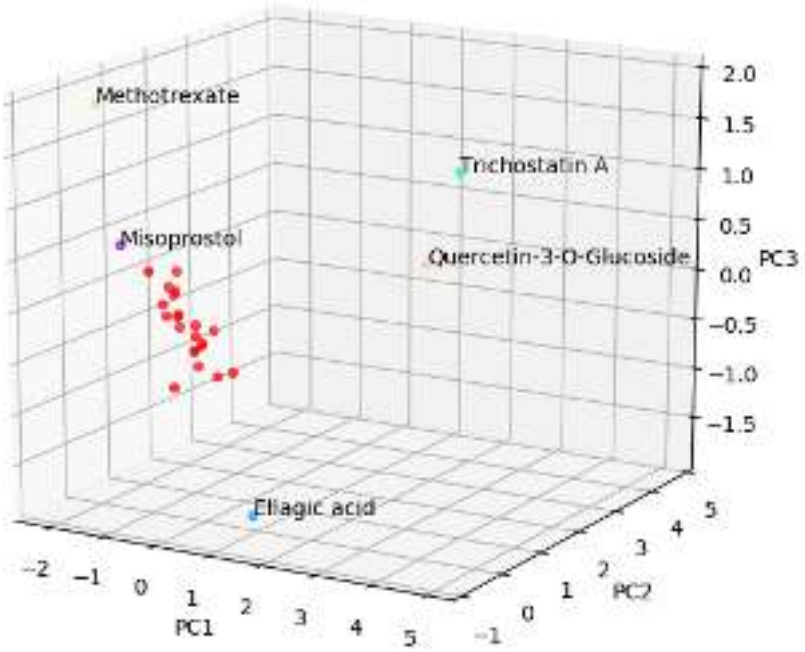

Рисунок 3.3.2.2. Проекция профилей генной экспрессии 26 радиомодификаторов, вызывающих клеточный ответ на транскриптомном уровне, на три первые главные компоненты.

фосфорилирования и вызывает у клеток ответ на стресс, а также индуцирует апоптоз. Трихостатин А, грибковый антибиотик, ингибитор клеточного деления и активатор апоптоза, также вызывает ответ на окислительный стресс и индуцирует аутофагию клетки. Pentoxifylline, ингибитор фосфодиэстеразы, на клеточном уровне вызывает замедление работы транскрипционных факторов и способствует замедлению процессов клеточного роста и развитию апоптотических процессов. Quercetin-3-O-Glucoside запускает анаболические процессы в клетке, транскрипцию, синтез АТФ и процессы репликации ДНК, при этом подавляются процессы, связанные с развитием сенесцентности. 16,16-dimethyl prostaglandin E2, ингибитор 15-гидрокси-PGDH, вызывает в клетках торможение пролиферативной активности. Cyclosporin A, иммуносупрессор, подавляет пролиферацию и процессы, связанные с митозом (организация веретена деления, репликацию и пр.). Rapamycin, также иммуносупрессор, ингибитор mTOR, как и циклоспорин А, взывает арест клеточного цикла и торможение перехода клетки G1/S. Curcumin, природный антибиотик, ингибирует клеточное деление клеток меланомы, запускает процессы катаболизма. Ellagic acid, антиоксидант, вызывает реорганизацию актинового цитоскелета, активирует гены, связанные с ответом на радиацию, в т.ч. и клеточного ареста, и ингибирует работу РНК-полимераз. Kanamycin,

антибиотик, связывается с 30S субъединицей рибосомы, вызывает развитие сигнала TLR-рецепторов, апоптотического процесса, ответ на окислительный стресс. Misoprostol, синтетическое производное простагландина E1, вызывает активацию генов апоптоза. Morin, антиоксидант, влияет на процессы транскрипции, ответа клетки на внешние стимулы и провоцирует развитие катаболических процессов в клетке. Таким образом, большинство исследованных препаратов, продемонстрировавших радиомодификаторные свойства, являются индукторам апоптоза, могут приводить к развитию аутофагии и активировать гены, связанные с ответом клетки на внешние стимулы, продукцию АФК и катаболическими процессами в клетках.

Таблица 3.3.2.1. Радиомодификаторы, вызывающие клеточный ответ на уровне генной экспрессии. Для всех веществ приведены их идентификаторы в базе LINCS L1000, а также общее количество дифференциально экспрессированных (ДЭ) генов.

Вещество	**L1000 ID**	**Кол-во ДЭ генов**	**Вещество**	**L1000 ID**	**Кол-во ДЭ генов**
Methotrexate	126941	1	Rapamycin	5284616	162
Carbonyl Cyanide M-Chlorophenyl Hydrazone	2603	29	Enalapril	5388962	2
Indomethacin	3715	2	Caffeic acid	689043	1
Trichostatin A	444732	2695	Curcumin	969516	115
Resveratrol	445154	6	Ellagic acid	5281855	264
Pentoxifylline	4740	408	Kaempferol	5280863	4
4-phenylbutyrate	4775	1	Kanamycin	6032	21
Quercetin	5280343	6	N-acetyl-L-cysteine	12035	1
Quercetin-3-O-Glucoside	5280804	249	Amifostine	2141	1
Myricetin	5281672	6	Artemisinin	68827	1
Polydatin	5281718	1	Misoprostol	5282381	12
16,16-dimethylprostaglandin E2	5283066	22	Morin	5281670	50
Cyclosporin A	5284373	55	MLN4924	16720766	4

Таблица 3.3.2.2. Гены, дифференциально экспрессированные в транскрипционных профилях трех и более радиомодификаторов.

Символ	**Название**	**Символ**	**Название**
NIPA2	NIPA Magnesium Transporter 2	LILRA2	Leukocyte Immunoglobulin Like Receptor A2
SMAD3	SMAD Family Member 3	ZFP36	ZFP36 Ring Finger Protein
UBTF	Upstream Binding Transcription Factor	INTS8	Integrator Complex Subunit 8
TIPARP	TCDD Inducible Poly(ADP-Ribose) Polymerase	SLC9A8	Solute Carrier Family 9 Member A8
NUCB2	Nucleobindin 2	FOSL1	FOS Like 1, AP-1 Transcription Factor Subunit
CCNF	Cyclin F	ASNS	Asparagine Synthetase (Glutamine-Hydrolyzing)
GMIP	GEM Interacting Protein	TNFRSF21	TNF Receptor Superfamily Member 21
ERBB3	Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 3	CD55	CD55 Molecule (Cromer Blood Group)
SETD5	SET Domain Containing 5	ORC2	Origin Recognition Complex Subunit 2
POLE2	DNA Polymerase Epsilon 2, Accessory Subunit	AARS	Alanyl-TRNA Synthetase
PCSK1N	Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 1 Inhibitor	DDIT3	DNA Damage Inducible Transcript 3
TXNRD1	Thioredoxin Reductase 1	CDC25A	Cell Division Cycle 25A
CDKN1A	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A	LARP6	La Ribonucleoprotein Domain Family Member 6
URB2	URB2 Ribosome Biogenesis 2 Homolog (S. Cerevisiae)	ARHGEF2	Rho/Rac Guanine Nucleotide Exchange Factor 2
TTPAL	Alpha Tocopherol Transfer Protein Like	HERPUD1	Homocysteine Inducible ER Protein With Ubiquitin Like Domain 1
AURKA	Aurora Kinase A	XBP1	X-Box Binding Protein 1
PPARG	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma	DNAJB9	DnaJ Heat Shock Protein Family (Hsp40) Member B9
ADCY3	Adenylate Cyclase 3	CDC20	Cell Division Cycle 20
MCMBP	Minichromosome Maintenance Complex Binding Protein	DDIT4	DNA Damage Inducible Transcript 4
GPSM2	G Protein Signaling Modulator 2	HMOX1	Heme Oxygenase 1
ASPM	Abnormal Spindle Microtubule Assembly	WASHC4	WASH Complex Subunit 4
CPSF6	Cleavage And Polyadenylation Specific Factor 6	CEMIP2	Cell Migration Inducing Hyaluronidase 2

Таблица 3.3.2.3. Гены, дифференциально экспрессированные в транскрипционных профилях трех и более радиомодификаторов и ассоциированные с радиорезистентностью по литературным данным.

Символ	**Название гена**	**Ссылка на источник**
CDKN1A	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A	*[335–339]*
CDC25A	Cell Division Cycle 25A	[340–342]
HMOX1	Heme Oxygenase 1	[343,344]
ERBB3	Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 3	[345]
DDIT3	DNA Damage Inducible Transcript 3	[338,346]
PPARG	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma	[347,348]
AURKA	Aurora Kinase A	[349,350]
ZFP36	ZFP36 Ring Finger Protein	[351]
XBP1	X-Box Binding Protein 1	[346]

Отечественные радиопротекторные препараты [352] включают в себя ряд веществ (рассматриваются исключительно малые молекулы), для которых хоть и не получен профиль генной экспрессии, но известен механизм действия. Индралин, применяющийся при высоких дозах облучения, альфа-адреномиметик, вызывает спазм сосудов и циркуляторные изменения кровоснабжения в радиочувствительных органах и тканях, в результате чего развивается гипоксия, определяющая защиту этих тканей. Рибоксин, антиоксидант, применяющийся при низких дозах, активатор метаболизма и обновления тканей, его механизм действия схож с Quercetin-3-O-Glucoside. Аналогичным действием обладает дезоксинат, стимулирующий пролиферацию клеток, особенно лейкопоэз и уменьшающий выраженность местных воспалительных реакций, активируя рост грануляций и эпителия.

Таким образом, на основании вышеописанных результатов анализа литературы и данных по анализу генной экспрессии, можно заключить, что радиомодификаторы, действующие сразу после облучения, должны стимулировать апоптоз в клетках, в которых нарушена структура ДНК, присутствует ответ на внешние абиотические стимулы, развиваются катаболические процессы вследствие облучения. Кроме того, препараты, приводящие к гипоксии в организме (радиопротекторы) способствуют угнетению митоза новых мутировавших клеток, которые могут спровоцировать развитие онкозаболеваний, а также к снижению концентрации АФК.

Препараты, применяющиеся после облучения направлены на поддержание нормальной функции организма: обновление клеток, препятствие к развитию фиброза.

Анализ соединений с геропротекторной/радиопротекторной активностью

Профили веществ включают следующие параметры (см. таблицу П6):

(1) Псевдонимы. Для удобного и эффективного поиска были включены псевдонимы веществ, исследованных в экспериментах. Эти данные были получены из БД PubChem.

(2) FDA статус. Для ряда соединений, одобренных Федеральной администрацией по лекарствам и пищевым продуктам (FDA) в качестве безопасных для людей, были показаны на модельных организмах геропротектные эффекты. Был осуществлен поиск по БД FDA с использованием названия препарата, активного ингредиента или номера заявки. Статус каждого соединения был получен из базы данных DrugBank Therapeutic Target, в которой используются следующие обозначения:

- "Не лекарство" - не используется в качестве медицинского препарата
- "Экспериментальный" - экспериментальный препарат, применяемый в медицине и ветеринарии, но не допущенный общенациональным регулятором
- "Одобрен" - одобрен для использования в качестве лекарственного средства
- "Изъят" - было принято решение отказаться от применения из-за возможного риска для пациентов с неожиданными побочными эффектами, которые не были обнаружены во время фазы III клинических испытаний
- "Исследуемый" (в США) - одобрен для использования национальными регулирующими органами в особых случаях (обычно в ключевых клинических испытаниях), с целью вывода препарата на рынок, проводя контроль безопасности препарата
- "Клинические испытания" - препарат в стадии клинических испытаний

(3) Количество проведенных клинических испытаний. Информация извлекается из clinicaltrials.gov, в настоящее время это крупнейший веб-каталог зарегистрированных клинических испытаний, содержит информацию о более чем 192862 клинических испытаниях, проведенных в США и в 189 других странах, в том числе подробные описания протоколов,

условий, изученных препаратов и т.д. Статусы некоторых соединений были заданы на основе информации из литературы.

(4) Токсичность. Поскольку приемлемый уровень токсичности является одним из основных критериев применимости веществ. Значения пероральной LD50 были собраны из спецификаций по безопасности (MSDS), также использовалась из БД http://toxnet.nlm.nih.gov/~~pobj.

(5) Мишени. Были включены мишени, которые подвергаются активации либо ингибированию под действием веществ-кандидатов. Данные были получены из KEGG.

(6) Побочные эффекты. Поиск был проведен в PubMed и в перечисленных ниже базах данных, чтобы выявить упомянутые эффекты:

- http://sideeffects.embl.de/drugs/5040/
- http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/default.htm
- http://toxnet.nlm.nih.gov/
- http://www.reference.md/
- http://livertox.nih.gov/

(7) Микроорганизмы. Микробы способны поддерживать функционирование организма хозяина за счет регуляции энергетического гомеостаза и иммунитета в течение репродуктивного периода жизни [353]. Был проведен дополнительный поиск как в PubMed, так и в http://www.selleckchem.com/~~HEAD=pobj с целью выяснить, обладают ли кандидаты-вещества антибактериальной, противогрибковой или противовирусной активностью.

(8) Связанные с возрастом патологии и механизмы (только для геропротекторов). Была изучена связь между соединениями кандидатами в геропротекторы и возрастными патологиями (хроническое воспаление, рак и т.д.), активацией механизмов, продлевающих продолжительность жизни (гормезис, миметики калорийных ограничений, стрессоустойчивость и т.д.), а также подавлением механизмов, способствующих старению (хелатирование ионов металла, антиоксидантная защита, чрезмерное ингибирование биосинтеза белка, клеточное старение). Каждый из этих параметров является важным фактором в оценке потенциальных геропротекторов. Возрастные патологии были отобраны на основе наличия данных об их связи с соединениями в базе данных. Механизмы старения и регуляции продолжительности жизни были выбраны исходя из основных теорий старения,

таких как теория накопления мутаций, теории запрограммированной клеточной гибели и т.д. [295].

(9) Биомаркеры старения. Биомаркеры старения представляют собой минимально инвазивные или неинвазивные, универсальные и стабильные физиологические и биохимические показатели, отражающие реальный биологический возраст [354],[355,356]. Поэтому, особенно важным для скрининга соединений, которые имеют потенциальные геропротектных эффекты, является понимание их влияние на биомаркеры старения. По этой причине, мы провели поиск исследований, которые демонстрируют влияние соединений, занесенных в нашу базе данных, на биомаркеры старения.

(10) Другие ссылки. База данных дополнительно содержит ссылки на Gene Expression Omnibus , транскрипционные данные LINCSCLOUD L1000 assay, природные источники веществ и структурные аналоги.

Визуализация и структура данных БД

Данные о соединениях делятся на три блока. Первый блок содержит изображение, название, краткое описание и ссылки на другие химические базы данных. Он также включает в себя информацию о количестве клинических испытаний и статуса лекарства. Второй блок включает в себя биологическую, фармакологическую, токсикологическую информацию и данные о механизмах продления продолжительности жизни/радиопротекторным свойствам. Третий блок посвящен ассоциаций каждого соединения с возрастными патологиями/патологиями, вызванными ИИ (хроническое воспаление, рак, агрегация амилоида и т.д.).

Интеграция с биохимическими и лекарственными базами данных

Соединения и механизмы действия были описаны с использованием нескольких химических и биологических баз данных. Профили соединений включают краткое описание, псевдонимы, химическую структуру, профиль токсичности, клиническое применение, биологическую и фармакологическую активность, химические взаимодействия и т.д. Все записи были интегрированы с ведущими химическими базами данных, в том числе PubChem, ChemSpider, DrugBank, CHEMBL, UniProt, и GenAge.

Сравнение с существующими базами данных по старению

Несколько баз данных со свободным доступом, касающихся исследований по старения, уже существуют, каждая из них заточена под определенную потребность и использует своеобразный подход (таблица 3.3.2.4).

Таблица 3.3.2.4. Сводка существующих баз данных, связанных со старением, в сравнении с Geroprotectors.org.

Источник	Структура	Число организмов	Число геропротекторов	Эффекты на продолжительность жизни	Структура соединений и их токсичность	Связи соединения с биомаркерами старения
AgeFactDB by Jen Age(http://www.agefactdb.jenage.de/) [357]	таблицы	17	91	Да	Нет	Да
Human Ageing Genomic Resources [358] (http://genomics.senescence .info/)	Разнообразная, много БД	1-4000+ в зависимости от базы данных	0, фокус на генах, а не на соединениях	Нет	Нет	Нет
Lifespan Observation database by Sageweb (http://lifespandb.sageweb.o rg/)	таблицы	17	91	Да	Нет	Нет
Geroprotectors (http://www.geroprotectors.org/)	таблицы	17	256	Да	Да	Да

Некоторые из этих баз данных содержат информацию по геропротекторам, в частности AgeFactDB от JenAge, которая содержит профили фенотипических эффектов 91 соединения, связанного со старением, наряду с генами и других объектами, связанными со старением. Тем не менее, ни одна из них не предоставляет исчерпывающий перечень известных геропротекторов и веществ-кандидатов, сопровождаемый полной сводкой информации о каждом из соединении. Кроме того, ни одна из существующих БД не содержат биохимические профили геропротекторных соединений, интегрированные с внешними базами данных.

Сравнение с существующими базами данных по радиопротекторам

На сегодняшний день существует только одна БД по радиопротекторам [359], аналогичная представленной - Bioinformatics Database of Radiosensitizers and Radioprotectors by University of Mumbai (http://bioph.mu.ac.in/Welcome/). БД включает порядка 100 соединений, значительная часть из которых представляет собой экстракты различных растений, в которых как правило, невозможно идентифицировать в чистом виде вещество, способное оказать радиопротекторный эффект. Radioprotectors.org включает в себя более 150 веществ как синтетического, так и природного происхождения и содержит детальную информацию по механизму действия, токсичности, биодоступности, фармакологическим свойствам вещества. Информация по экспериментам и эффективности взята из рецензируемых научных журналов. Все вещества имеют уникальный идентификатор, позволяющий быстро найти нужное соединение в ведущих химических базах данных, включая PubChem, ZINC и др.

Доступность

Базы данных Geroprotectors и Radioprotectors доступна на http://www.geroprotectors.org и http://www.radioprotectors.org соответсвенно. Данные доступны под лицензии Creative Commons, что позволяет использовать эти данных в других исследованиях. Существующие опции позволяют либо загрузить всю базу данных, либо загрузить отдельные данные с помощью средств экспорта. Обратная связь по электронной почте приветствуется, равно как и представление новых данных, для которых предусмотрена специальная форма.

Обсуждение

Для части соединений из БД Geroprotectors была показана радиопротекторная активность. Результаты приведены в таблице П7. Функциональное сходство между геропротекторами и радиопротекторами обусловлено, по крайней мере, частично, аналогичной природой негативных воздействий на ДНК. Повреждения генетического материала плавно накапливаются в течение жизни, по мере того как убывает эффективность систем репарации и способность клеток нейтрализовать генотоксичные факторы. Гибель и сенесцентное состояние клеток, приводящие к фиброзу и хроническим воспалительным процессам, а также уменьшение пула стволовых клеток и их злокачественное перерождение в условиях генотоксического стресса - ключевые события процесса старения.

Ультрафиолетовое излучение считается одним из ключевых факторов старения кожи и индуктором вышеописанных процессов. Ионизирующее облучение в кратчайшие сроки провоцирует многочисленные и часто нерепарируемые повреждения (разрывы в обеих цепях ДНК), приводящие к массовой гибели клеток в первую очередь, с высоким пролиферативным индексом. Критическим событием является практически полное угнетение гемопоэза и истощение ниши стволовых клеток в костном мозге. Радиация вызывает развитие сенесцентного фенотипа как защитного механизма от возможной злокачественной трансформации. Таким образом, процессы старения и радиочувствительности клеток тесно связаны.

Вещества, обладающие геро- и радиопротекторными свойствами могут проявлять аналогичные эффекты (например, выступать в качестве антиоксидантов и уменьшать количество свободных радикалов, образующихся как естественным путем в процессах метаболизма клетки, так и появившихся в результате радиолиза), а также воздействовать на одни и те же сигнальные пути, активация/деактивация которых может иметь положительный эффект [360,361].

Заключение

По результатам проведенных исследований были созданы открытые курируемые базы данных geroprotectors.org и radioprotectors.org, содержащие актуальную информацию по веществам, применяемых в качестве геро- и радиомодификаторов. БД geroprotectors.org

содержит более 250 веществ, БД radioprotectors.org содержит более 150 веществ, более 70 веществ общие в обеих БД. Вещества, которые являются общими для двух баз данных, как правило, либо антиоксиданты, либо связываются с ДНК. Структура описанных баз данных интегрирует в себе сразу несколько открытых баз данных и таким образом облегчает пользователю работу с информацией.

Выводы

1. Анализ профиля генной экспрессии показал, что в ответ на воздействие ИИ в клетках человека активируются пути p53, ATM и MAPK, а также гены, влияющие на регуляцию клеточного цикла и синтез провоспалительных цитокинов. В частности, EGF передает сигнал к рецепторам Fas, c-Raf-1 и ERK2. ERK2 передает сигнал на p53 и бета-ДНК-полимеразы посредством активации PARP-1. P53 активирует транскрипционный фактор egr1, который регулирует до SOD1, Bax, TNF-альфа, EGFR, ERK2, EGR3 и P21. Таким образом, излучение повышает экспрессию генов дифференцировки клеток и генов, участвующих в апоптозе и ответе на повреждение ДНК.
2. Обнаружены изменения профиля генной экспрессии фибробластов при репликативном старении. Транскрипция генов белков, участвующих в процессах апоптоза и репарации ДНК испытывает устойчивую понижающую регуляцию с увеличением номера клеточного поколения. С другой стороны, основные сигнальные пути, такие как mTOR, GSK3, TGF-бета, PAK, ILK, GPCR и ERK подвержены повышающей регуляции. Также, GPCR-, эстроген- и PPAR-пути претерпевают повышающую регуляцию в группах, которые прошли 50 и 70 циклов пересева, но затем, после 80 циклов, подвергаются понижающей регуляции.
3. Определены основные гены и пути, которые участвуют в развитии ответа фибробластов кожи человека на облучение в больших (2 Гр) и малых (5 сГр) дозах. Сравнение с репликативно состаренными фибробластами показало, что экспрессионный профиль фибробластов, облученных в дозе 2 Гр близок к профилю “старых” фибробластов. Таким образом были определены пути-мишени, на которые могут быть направлены новые лекарства и комбинации лекарственных средств для предотвращения нормального старения и последствий воздействия ИИ.
4. Анализ дифференциально экспрессированных генов клеток линии A375, инкубированных с 51 радиомодификатором, показал, что 26 веществ вызывают изменения транскриптомного профиля облученных клеток: данные гены отвечают за регуляцию клеточного цикла, ответ на внеклеточные сигналы, отрицательную регуляцию анаболических процессов и ответа на внеклеточные стимулы, регуляцию

программируемой клеточной смерти, в частности, апоптоза, ответ на изменения уровня питательных веществ, т.е. запускает клеточный ответ на стресс.

5. Создана и валидирована методика поиска эффективных геропротекторов. Разработанный алгоритм GeroScope позволил идентифицировать 10 веществ-геропротекторов, которые были протестированы. Наиболее значимые эффекты с потенциальной синергией защиты от старения наблюдались для N-ацетилцистеина, мирицетина и галлата эпигаллокатехина. По результатам проведенных исследований были созданы открытые курируемые базы данных geroprotectors.org и radioprotectors.org, содержащие актуальную информацию по веществам, потенциально применяемых в качестве геро- и радиопротекторов.

Список использованной литературы

1. Henshaw P.S., Riley E.F., Stapleton G.E. The Biologic Effects of Pile Radiations // Radiology. 1947. Vol. 49, № 3. P. 349–360.
2. Mewissen D.J. et al. A formula for chronic radiation dosage versus shortening of life span: application to a large mammal // Radiat. Res. 1957. Vol. 6, № 4. P. 450–459.
3. Upton A.C. et al. Some delayed effects of atom-bomb radiations in mice // Cancer Res. 1960. Vol. 20(8)Pt2. P. 1–60.
4. Strehler B.L. Origin and comparison of the effects of time and high-energy radiations on living systems // Q. Rev. Biol. 1959. Vol. 34, № 2. P. 117–142.
5. Finch S.C., Beebe G.W. Review of thirty years study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. II. Biological effects. F. Aging // J. Radiat. Res. 1975. Vol. 16 Suppl. P. 108–121.
6. Medawar P.B. An Unsolved Problem of Biology: An Inaugural Lecture Delivered at University College, London, 6 December, 1951. 1952. 24 p.
7. Failla G. The aging process and cancerogenesis // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1958. Vol. 71, № 6. P. 1124–1140.
8. Williams G.C. Pleiotropy, Natural Selection, and the Evolution of Senescence // Evolution. 1957. Vol. 11, № 4. P. 398.
9. Kirkwood T.B. Evolution of ageing // Nature. 1977. Vol. 270, № 5635. P. 301–304.
10. Contributors to Wikimedia projects. Теория одноразовой сомы — Википедия [Electronic resource] // Wikimedia Foundation, Inc. 2008. URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B5%D0%BE%D1%80%D0%B8%D1%8F_%D0%BE%D0%B4%D0%BD%D0%BE%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9_%D1%81%D0%BE%D0%BC%D1%8B (accessed: 09.01.2019).
11. Comfort A. The biology of ageing // Lancet. 1956. Vol. 271, № 6946. P. 772–778.
12. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry // J. Gerontol. 1956. Vol. 11, № 3. P. 298–300.
13. Harman D. The biologic clock: the mitochondria? // J. Am. Geriatr. Soc. 1972. Vol. 20, № 4. P. 145–147.
14. Hofer A.C. et al. Shared phenotypes among segmental progeroid syndromes suggest underlying pathways of aging // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 2005. Vol. 60, № 1. P. 10–20.

15. Kurz E.U., Lees-Miller S.P. DNA damage-induced activation of ATM and ATM-dependent signaling pathways // DNA Repair . 2004. Vol. 3, № 8-9. P. 889–900.
16. Ito K. et al. Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells // Nature. 2004. Vol. 431, № 7011. P. 997–1002.
17. Cabuy E. et al. Accelerated telomere shortening and telomere abnormalities in radiosensitive cell lines // Radiat. Res. 2005. Vol. 164, № 1. P. 53–62.
18. Dalle-Donne I. et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease // Clin. Chem. 2006. Vol. 52, № 4. P. 601–623.
19. Hayashi T. et al. HLA haplotype is associated with diabetes among atomic bomb survivors // Hum. Immunol. 2003. Vol. 64, № 9. P. 910–916.
20. Levenson J.L. The American Psychiatric Publishing Textbook of Psychosomatic Medicine: Psychiatric Care of the Medically Ill. American Psychiatric Pub, 2011. 1180 p.
21. Schiff D., Wen P.Y. Cancer Neurology in Clinical Practice. 2002.
22. Preston D.L. et al. Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: solid cancer and noncancer disease mortality: 1950-1997. 2003 // Radiat. Res. 2012. Vol. 178, № 2. P. AV146–AV172.
23. Little M.P. Cancer and non-cancer effects in Japanese atomic bomb survivors // J. Radiol. Prot. 2009. Vol. 29, № 2A. P. A43–A59.
24. Atkinson W.D., Law D.V., Bromley K.J. A decline in mortality from prostate cancer in the UK Atomic Energy Authority workforce // J. Radiol. Prot. 2007. Vol. 27, № 4. P. 437–445.
25. Soloviev V.Y. et al. “Early” leukaemia effect in prolonged exposure with high doses // International Journal of Low Radiation. 2006. Vol. 2, № 3/4. P. 275.
26. Doonan R. et al. Against the oxidative damage theory of aging: superoxide dismutases protect against oxidative stress but have little or no effect on life span in Caenorhabditis elegans // Genes Dev. 2008. Vol. 22, № 23. P. 3236–3241.
27. Meng A. et al. Ionizing radiation and busulfan induce premature senescence in murine bone marrow hematopoietic cells // Cancer Res. 2003. Vol. 63, № 17. P. 5414–5419.
28. Rando T.A. Stem cells, ageing and the quest for immortality // Nature. 2006. Vol. 441, № 7097. P. 1080–1086.
29. Blagosklonny M.V. Aging: ROS or TOR // Cell Cycle. 2008. Vol. 7, № 21. P. 3344–3354.
30. Sohal R.S. et al. Effect of age and caloric restriction on DNA oxidative damage in different tissues of C57BL/6 mice // Mech. Ageing Dev. 1994. Vol. 76, № 2-3. P. 215–224.

31. Heilbronn L.K. et al. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial // JAMA. 2006. Vol. 295, № 13. P. 1539–1548.
32. Yoshida K. et al. Caloric restriction prevents radiation-induced myeloid leukemia in C3H/HeMs mice and inversely increases incidence of tumor-free death: implications in changes in number of hemopoietic progenitor cells // Exp. Hematol. 2006. Vol. 34, № 3. P. 274–283.
33. Tan W.Y., Hanin L.G. Handbook of Cancer Models with Applications. World Scientific, 2008. 567 p.
34. Kodama K. et al. Long-term health consequences of atomic bomb radiation: RERF Life Span Study // Int. Congr. Ser. 2007. Vol. 1299. P. 73–80.
35. Committee to Assess Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation et al. Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation:: BEIR VII Phase 2. National Academies Press, 2006. 424 p.
36. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103 // Ann. ICRP. 2007. Vol. 37, № 2-4. P. 1–332.
37. Richardson R.B. Age-dependent changes in oxygen tension, radiation dose and sensitivity within normal and diseased coronary arteries-Part A: dose from radon and thoron // Int. J. Radiat. Biol. 2008. Vol. 84, № 10. P. 838–848.
38. Wong F.L. et al. Effects of radiation on the longitudinal trends of total serum cholesterol levels in the atomic bomb survivors // Radiat. Res. 1999. Vol. 151, № 6. P. 736–746.
39. Sasaki H. et al. The effects of aging and radiation exposure on blood pressure levels of atomic bomb survivors // J. Clin. Epidemiol. 2002. Vol. 55, № 10. P. 974–981.
40. Neriishi K. et al. Postoperative cataract cases among atomic bomb survivors: radiation dose response and threshold // Radiat. Res. 2007. Vol. 168, № 4. P. 404–408.
41. Jones J.A. et al. Cataract formation mechanisms and risk in aviation and space crews // Aviat. Space Environ. Med. 2007. Vol. 78, № 4 Suppl. P. A56–A66.
42. Kusunoki Y., Hayashi T. Long-lasting alterations of the immune system by ionizing radiation exposure: implications for disease development among atomic bomb survivors // Int. J. Radiat. Biol. 2008. Vol. 84, № 1. P. 1–14.
43. Yamaoka M. et al. Decreases in Percentages of Naïve CD4 and CD8 T Cells and Increases in Percentages of Memory CD8 T-Cell Subsets in the Peripheral Blood Lymphocyte Populations of A-Bomb Survivors // Radiat. Res. 2004. Vol. 161, № 3. P. 290–298.

44. Nagataki S. Thyroid Diseases Among Atomic Bomb Survivors in Nagasaki // JAMA. 1994. Vol. 272, № 5. P. 364.
45. Imaizumi M. et al. Radiation dose-response relationships for thyroid nodules and autoimmune thyroid diseases in Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors 55-58 years after radiation exposure // JAMA. 2006. Vol. 295, № 9. P. 1011–1022.
46. Fujiwara S. et al. Prevalence of anti-hepatitis C virus antibody and chronic liver disease among atomic bomb survivors // Radiat. Res. 2000. Vol. 154, № 1. P. 12–19.
47. Sharp G.B. et al. Hepatocellular carcinoma among atomic bomb survivors: significant interaction of radiation with hepatitis C virus infections // Int. J. Cancer. 2003. Vol. 103, № 4. P. 531–537.
48. Shimizu Y. et al. Studies of the mortality of atomic bomb survivors. Report 12, part II. Noncancer mortality: 1950-1990 // Radiat. Res. 1999. Vol. 152, № 4. P. 374–389.
49. Hamilton S.A. et al. A murine model for bone loss from therapeutic and space-relevant sources of radiation // J. Appl. Physiol. 2006. Vol. 101, № 3. P. 789–793.
50. Ranu H.S. Effects of radiotherapy on the mechanical properties of human skin // IEEE Eng. Med. Biol. Mag. 1991. Vol. 10, № 2. P. 55–57.
51. Hollingsworth J.W., Ishii G., Conard R.A. Skin aging and hair graying in Hiroshima // Geriatrics. 1961. Vol. 16. P. 27–36.
52. Johnson M.L. Human effects following exposure to ionizing radiation. The accident at Chernobyl--the data from Hiroshima and Nagasaki // Arch. Dermatol. 1986. Vol. 122, № 12. P. 1380–1382.
53. Anderson R.E. Longevity in radiated human populations, with particular reference to the atomic bomb survivors // Am. J. Med. 1973. Vol. 55, № 5. P. 643–656.
54. Beckman K.B., Ames B.N. Oxidative Decay of DNA // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272, № 32. P. 19633–19636.
55. Floyd R.A. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1999. Vol. 222, № 3. P. 236–245.
56. Lu C.Y. et al. Oxidative damage elicited by imbalance of free radical scavenging enzymes is associated with large-scale mtDNA deletions in aging human skin // Mutat. Res. 1999. Vol. 423, № 1-2. P. 11–21.
57. Richter C., Park J.W., Ames B.N. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1988. Vol. 85, № 17. P. 6465–6467.
58. [No title] [Electronic resource]. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=25896465 (accessed:

28.01.2019).
59. Lang C.A. et al. Low blood glutathione levels in healthy aging adults // J. Lab. Clin. Med. 1992. Vol. 120, № 5. P. 720–725.
60. Ji L.L. Antioxidant enzyme response to exercise and training in the skeletal muscle // Oxidative Stress in Skeletal Muscle. 1998. P. 103–125.
61. Sohal R.S. et al. Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defenses during aging and in response to food restriction in the mouse // Mech. Ageing Dev. 1994. Vol. 74, № 1-2. P. 121–133.
62. Mecocci P. et al. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26, № 3-4. P. 303–308.
63. Mutlu-Türkoğlu U. et al. Age-related increases in plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in elderly subjects // Clin. Biochem. 2003. Vol. 36, № 5. P. 397–400.
64. Martin I., Grotewiel M.S. Oxidative damage and age-related functional declines // Mech. Ageing Dev. 2006. Vol. 127, № 5. P. 411–423.
65. Karbownik-Lewinska M. et al. GH replacement reduces increased lipid peroxidation in GH-deficient adults // Clin. Endocrinol. . 2008. Vol. 68, № 6. P. 957–964.
66. Stadtman E.R. Protein oxidation and aging // Free Radic. Res. 2006. Vol. 40, № 12. P. 1250–1258.
67. Andreassi M.G. Coronary atherosclerosis and somatic mutations: an overview of the contributive factors for oxidative DNA damage // Mutat. Res. 2003. Vol. 543, № 1. P. 67–86.
68. Fagiolo U. et al. Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people // Eur. J. Immunol. 1993. Vol. 23, № 9. P. 2375–2378.
69. Meeren A.V.D. et al. Ionizing radiation enhances IL-6 and IL-8 production by human endothelial cells // Mediators Inflamm. 1997. Vol. 6, № 3. P. 185–193.
70. Hayashi T. et al. Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb survivors // Am. J. Med. 2005. Vol. 118, № 1. P. 83–86.
71. Hayashi T. et al. 83 Acceleration of aging-associated increase in inflammatory markers and attenuation of the immune system among atomic-bomb survivors // Cytokine. 2008. Vol. 43, № 3. P. 255–256.
72. Rudolph R. et al. Slowed growth of cultured fibroblasts from human radiation wounds // Plast. Reconstr. Surg. 1988. Vol. 82, № 4. P. 669–677.

73. Heissig B. et al. Low-dose irradiation promotes tissue revascularization through VEGF release from mast cells and MMP-9-mediated progenitor cell mobilization // J. Exp. Med. 2005. Vol. 202, № 6. P. 739–750.
74. Panés J., Granger D.N. Neutrophils generate oxygen free radicals in rat mesenteric microcirculation after abdominal irradiation // Gastroenterology. 1996. Vol. 111, № 4. P. 981–989.
75. Hildebrandt G. et al. Mechanisms of the anti-inflammatory activity of low-dose radiation therapy // Int. J. Radiat. Biol. 1998. Vol. 74, № 3. P. 367–378.
76. Azzam E.I., Little J.B. The radiation-induced bystander effect: evidence and significance // Hum. Exp. Toxicol. 2004. Vol. 23, № 2. P. 61–65.
77. Trosko J.E. et al. Low-dose ionizing radiation: induction of differential intracellular signalling possibly affecting intercellular communication // Radiat. Environ. Biophys. 2005. Vol. 44, № 1. P. 3–9.
78. Donehower L.A. p53: guardian AND suppressor of longevity? // Exp. Gerontol. 2005. Vol. 40, № 1-2. P. 7–9.
79. Matheu A. et al. Delayed ageing through damage protection by the Arf/p53 pathway // Nature. 2007. Vol. 448, № 7151. P. 375–379.
80. Dumble M. et al. The impact of altered p53 dosage on hematopoietic stem cell dynamics during aging // Blood. 2007. Vol. 109, № 4. P. 1736–1742.
81. Smith T.A. et al. Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation // J. Transl. Med. 2017. Vol. 15, № 1. P. 232.
82. Phillips T., Leeuwenburgh C. Muscle fiber specific apoptosis and TNF-α signaling in sarcopenia are attenuated by life-long calorie restriction // The FASEB Journal. 2005. Vol. 19, № 6. P. 668–670.
83. Shelke R.R.J., Leeuwenburgh C. Lifelong caloric restriction increases expression of apoptosis repressor with a caspase recruitment domain (ARC) in the brain // FASEB J. 2003. Vol. 17, № 3. P. 494–496.
84. Feng Z. et al. Declining p53 function in the aging process: a possible mechanism for the increased tumor incidence in older populations // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2007. Vol. 104, № 42. P. 16633–16638.
85. Finkel T., Serrano M., Blasco M.A. The common biology of cancer and ageing // Nature. 2007. Vol. 448, № 7155. P. 767–774.

86. Johnson H.A. AGE AND SENSITIVITY TO RADIATION LIFE SHORTENING // Radiat. Res. 1964. Vol. 23. P. 19–25.
87. Bielas J.H. et al. Human cancers express a mutator phenotype // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006. Vol. 103, № 48. P. 18238–18242.
88. Ishikawa Y. et al. Revised organ partition of thorium-232 in thorotrast patients // Radiat. Res. 1999. Vol. 152, № 6 Suppl. P. S102–S106.
89. Martin G.M. et al. Somatic mutations are frequent and increase with age in human kidney epithelial cells // Hum. Mol. Genet. 1996. Vol. 5, № 2. P. 215–221.
90. Vorobtsova I. et al. An investigation of the age-dependency of chromosome abnormalities in human populations exposed to low-dose ionising radiation // Mech. Ageing Dev. 2001. Vol. 122, № 13. P. 1373–1382.
91. Hoffmann W.O.L.F.G.A.N.G., W O L F G A N G HOFFMANN, I N G. How radiation-specific is the dicentric assay? // J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol. 1999. Vol. 9, № 2. P. 113–133.
92. Орадовская И.В. 30 лет трагедии в Чернобыле. Клинические и иммунологические эффекты у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Основные итоги многолетнего мониторинга // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Vol. 56, № 3. P. 251–273.
93. Цитология. 2001.
94. Bauchinger M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis // Mutat. Res. 1995. Vol. 339, № 3. P. 177–189.
95. Ramsey M.J. et al. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting // Mutat. Res. 1995. Vol. 338, № 1-6. P. 95–106.
96. Vijg J., Dollé M.E.T. Genome instability: Cancer or aging? // Mech. Ageing Dev. 2007. Vol. 128, № 7-8. P. 466–468.
97. Kadhim M.A. et al. Transmission of chromosomal instability after plutonium α-particle irradiation // Nature. 1992. Vol. 355, № 6362. P. 738–740.
98. Kodama Y. et al. Clonally Expanded T-Cell Populations in Atomic Bomb Survivors Do Not Show Excess Levels of Chromosome Instability // Radiat. Res. 2005. Vol. 164, № 5. P. 618–626.
99. Hamasaki K. et al. Clonally expanded T lymphocytes from atomic bomb survivors in vitro show no evidence of cytogenetic instability // Radiat. Res. 2009. Vol. 172, № 2. P. 234–243.
100. Ward J.F., Blakely W.F., Joner E.I. Mammalian cells are not killed by DNA single-strand breaks caused by hydroxyl radicals from hydrogen peroxide // Radiat. Res. 1985. Vol. 103, № 3. P.

383–392.

101. Saul R.L., Ames B.N. Background levels of DNA damage in the population // Basic Life Sci. 1986. Vol. 38. P. 529–535.

102. Druzhyna N.M., Wilson G.L., LeDoux S.P. Mitochondrial DNA repair in aging and disease // Mech. Ageing Dev. 2008. Vol. 129, № 7-8. P. 383–390.

103. Ward J.F., Blakely W.F., Joner E.I. Mammalian Cells Are Not Killed by DNA Single-Strand Breaks Caused by Hydroxyl Radicals from Hydrogen Peroxide // Radiat. Res. 1985. Vol. 103, № 3. P. 383.

104. Ward J.F. DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability // Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology. 1988. P. 95–125.

105. Chaudhry M.A. Base excision repair of ionizing radiation-induced DNA damage in G1 and G2 cell cycle phases // Cancer Cell Int. 2007. Vol. 7. P. 15.

106. Goukassian D. et al. Mechanisms and implications of the age-associated decrease in DNA repair capacity // FASEB J. 2000. Vol. 14, № 10. P. 1325–1334.

107. Birrell G.W. et al. Transcriptional response of Saccharomyces cerevisiae to DNA-damaging agents does not identify the genes that protect against these agents // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002. Vol. 99, № 13. P. 8778–8783.

108. Herbig U. et al. Cellular senescence in aging primates // Science. 2006. Vol. 311, № 5765. P. 1257.

109. Sedelnikova O.A. et al. Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unrepairable double-strand breaks // Nat. Cell Biol. 2004. Vol. 6, № 2. P. 168–170.

110. Hayflick L., Moorhead P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains // Exp. Cell Res. 1961. Vol. 25. P. 585–621.

111. Harley C.B. Human ageing and telomeres // Ciba Found. Symp. 1997. Vol. 211. P. 129–139; discussion 139–144.

112. Greenwood M.J., Lansdorp P.M. Telomeres, telomerase, and hematopoietic stem cell biology // Arch. Med. Res. 2003. Vol. 34, № 6. P. 489–495.

113. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres // Trends Biochem. Sci. 2002. Vol. 27, № 7. P. 339–344.

114. Campisi J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism // Trends Cell Biol. 2001. Vol. 11, № 11. P. S27–S31.

115. Takubo K. et al. Telomere lengths are characteristic in each human individual // Exp. Gerontol. 2002. Vol. 37, № 4. P. 523–531.
116. Cawthon R.M. et al. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older // Lancet. 2003. Vol. 361, № 9355. P. 393–395.
117. Epel E.S. et al. The rate of leukocyte telomere shortening predicts mortality from cardiovascular disease in elderly men: a novel demonstration // Aging . 2008. Vol. 1, № 1. P. 81–88.
118. Fuster J.J., Andrés V. Telomere biology and cardiovascular disease // Circ. Res. 2006. Vol. 99, № 11. P. 1167–1180.
119. Martin-Ruiz C.M. et al. Telomere length in white blood cells is not associated with morbidity or mortality in the oldest old: a population-based study // Aging Cell. 2005. Vol. 4, № 6. P. 287–290.
120. Walne A.J., Dokal I. Advances in the understanding of dyskeratosis congenita // Br. J. Haematol. 2009. Vol. 145, № 2. P. 164–172.
121. Hande M.P., Lansdorp P.M., Natarajan A.T. Induction of telomerase activity by in vivo X-irradiation of mouse splenocytes and its possible role in chromosome healing // Mutat. Res. 1998. Vol. 404, № 1-2. P. 205–214.
122. Sgura A. et al. Telomere length in mammalian cells exposed to low- and high-LET radiations // Radiat. Prot. Dosimetry. 2006. Vol. 122, № 1-4. P. 176–179.
123. Goytisolo F.A. et al. Short telomeres result in organismal hypersensitivity to ionizing radiation in mammals // J. Exp. Med. 2000. Vol. 192, № 11. P. 1625–1636.
124. Rubio M.A., Davalos A.R., Campisi J. Telomere length mediates the effects of telomerase on the cellular response to genotoxic stress // Exp. Cell Res. 2004. Vol. 298, № 1. P. 17–27.
125. M'kacher R. et al. Telomere shortening and associated chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes of patients with Hodgkin's lymphoma prior to any treatment are predictive of second cancers // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2007. Vol. 68, № 2. P. 465–471.
126. Cipolleschi M.G., Dello Sbarba P., Olivotto M. The role of hypoxia in the maintenance of hematopoietic stem cells // Blood. 1993. Vol. 82, № 7. P. 2031–2037.
127. Visvader J.E., Lindeman G.J. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions // Nat. Rev. Cancer. 2008. Vol. 8, № 10. P. 755–768.
128. Fehrer C. et al. Reduced oxygen tension attenuates differentiation capacity of human mesenchymal stem cells and prolongs their lifespan // Aging Cell. 2007. Vol. 6, № 6. P. 745–757.
129. Thoday J.M., Read J. Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by

alpha-rays // Nature. 1949. Vol. 163, № 4134. P. 133.

130. Nie H., Richardson R.B. Radiation dose to trabecular bone marrow stem cells from (3)H, (14)C and selected alpha-emitters incorporated in a bone remodeling compartment // Phys. Med. Biol. 2009. Vol. 54, № 4. P. 963–979.

131. Rossi D.J. et al. Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2005. Vol. 102, № 26. P. 9194–9199.

132. Janzen V. et al. Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a // Nature. 2006. Vol. 443, № 7110. P. 421–426.

133. Beauséjour C. Bone marrow-derived cells: the influence of aging and cellular senescence // Handb. Exp. Pharmacol. 2007. № 180. P. 67–88.

134. Wang Y. et al. Total body irradiation selectively induces murine hematopoietic stem cell senescence // Blood. 2006. Vol. 107, № 1. P. 358–366.

135. Mirzayans R. et al. Induction of Accelerated Senescence by γ Radiation in Human Solid Tumor-Derived Cell Lines Expressing Wild-Type TP53 // Radiat. Res. 2005. Vol. 163, № 1. P. 53–62.

136. Bartkova J. et al. Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints // Nature. 2006. Vol. 444, № 7119. P. 633–637.

137. Liu Y. et al. Expression ofp16INK4ain peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging // Aging Cell. 2009. Vol. 8, № 4. P. 439–448.

138. Su S. et al. Aberrant Promoter Methylation of p16INK4a and O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Genes in Workers at a Chinese Uranium Mine // J. Occup. Health. 2006. Vol. 48, № 4. P. 261–266.

139. Schultz E., Lipton B.H. Skeletal muscle satellite cells: Changes in proliferation potential as a function of age // Mech. Ageing Dev. 1982. Vol. 20, № 4. P. 377–383.

140. Martin K., Kirkwood T.B., Potten C.S. Age changes in stem cells of murine small intestinal crypts // Exp. Cell Res. 1998. Vol. 241, № 2. P. 316–323.

141. Rossi D.J. et al. Deficiencies in DNA damage repair limit the function of haematopoietic stem cells with age // Nature. 2007. Vol. 447, № 7145. P. 725–729.

142. Nijnik A. et al. DNA repair is limiting for haematopoietic stem cells during ageing // Nature. 2007. Vol. 447, № 7145. P. 686–690.

143. Barranco S.C., Beers R.F., Merz T. MARROW CELL INJURY FOLLOWING Ca45 UPTAKE IN BONE: CHANGES IN MARROW AND PERIPHERAL BLOOD CELLULARITY //

American Journal of Roentgenology. 1969. Vol. 106, № 4. P. 794–801.

144. Rowland R.E., Stehney A.F., Lucas H.F. Dose-response relationships for radium-induced bone sarcomas // Health Phys. 1983. Vol. 44 Suppl 1. P. 15–31.

145. Simmons D.J. et al. Delayed Effects of Bone-Seeking Radionuclides // Radiat. Res. 1970. Vol. 41, № 1. P. 226.

146. Caratero A. et al. Effect of a continuous gamma irradiation at a very low dose on the life span of mice // Gerontology. 1998. Vol. 44, № 5. P. 272–276.

147. Crawford D.R., Davies K.J. Adaptive response and oxidative stress // Environ. Health Perspect. 1994. Vol. 102 Suppl 10. P. 25–28.

148. Tanaka I.B. 3rd et al. Cause of death and neoplasia in mice continuously exposed to very low dose rates of gamma rays // Radiat. Res. 2007. Vol. 167, № 4. P. 417–437.

149. Okada M. et al. Single extreme low dose/low dose rate irradiation causes alteration in lifespan and genome instability in primary human cells // Br. J. Cancer. 2007. Vol. 96, № 11. P. 1707–1710.

150. Kakinuma S. et al. Effect of carbon ions on life span shortening and tumorigenesis in mice // Biol. Sci. Space. 2004. Vol. 18, № 3. P. 190.

151. Vetter R.J. ICRP Publication 103, The Recommendations of the International Commission on Radiological Protection // Health Phys. 2008. Vol. 95, № 4. P. 445–446.

152. Becker N. et al. Mortality among Thorotrast-exposed patients and an unexposed comparison group in the German Thorotrast study // Eur. J. Cancer. 2008. Vol. 44, № 9. P. 1259–1268.

153. Cologne J.B., Preston D.L. Longevity of atomic-bomb survivors // Lancet. 2000. Vol. 356, № 9226. P. 303–307.

154. Perez-Diez A., Morgun A., Shulzhenko N. Microarrays for Cancer Diagnosis and Classification // Advances in Experimental Medicine and Biology. P. 74–85.

155. Murphy D. Gene expression studies using microarrays: principles, problems, and prospects // Adv. Physiol. Educ. 2002. Vol. 26, № 1-4. P. 256–270.

156. Anders S., Huber W. Differential expression analysis for sequence count data // Genome Biol. 2010. Vol. 11, № 10. P. R106.

157. Cui X. et al. Improved statistical tests for differential gene expression by shrinking variance components estimates // Biostatistics. 2005. Vol. 6, № 1. P. 59–75.

158. Jiao Y. et al. DART: Denoising Algorithm based on Relevance network Topology improves molecular pathway activity inference // BMC Bioinformatics. 2011. Vol. 12, № 1. P. 403.

159. Kanehisa M. The KEGG resource for deciphering the genome // Nucleic Acids Res. 2004. Vol. 32, № 90001. P. 277D – 280.
160. Edgar R. Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository // Nucleic Acids Res. 2002. Vol. 30, № 1. P. 207–210.
161. Buzdin A.A. et al. Oncofinder, a new method for the analysis of intracellular signaling pathway activation using transcriptomic data // Front. Genet. 2014. Vol. 5. P. 55.
162. Kolde R., Vilo J. GOsummaries: an R Package for Visual Functional Annotation of Experimental Data // F1000Res. 2015.
163. Gentleman R.C. et al. // Genome Biol. 2004. Vol. 5, № 10. P. R80.
164. Carey V.J. et al. Network structures and algorithms in Bioconductor // Bioinformatics. 2004. Vol. 21, № 1. P. 135–136.
165. Durinck S. et al. Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt // Nat. Protoc. 2009. Vol. 4, № 8. P. 1184–1191.
166. Durinck S. et al. BioMart and Bioconductor: a powerful link between biological databases and microarray data analysis // Bioinformatics. 2005. Vol. 21, № 16. P. 3439–3440.
167. Feng G. et al. Using the bioconductor GeneAnswers package to interpret gene lists // Methods Mol. Biol. 2012. Vol. 802. P. 101–112.
168. Dobin A. et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner // Bioinformatics. 2013. Vol. 29, № 1. P. 15–21.
169. Kent W.J. BLAT--the BLAST-like alignment tool // Genome Res. 2002. Vol. 12, № 4. P. 656–664.
170. Bullard J.H. et al. Evaluation of statistical methods for normalization and differential expression in mRNA-Seq experiments // BMC Bioinformatics. 2010. Vol. 11. P. 94.
171. Tarazona S. et al. Data quality aware analysis of differential expression in RNA-seq with NOISeq R/Bioc package // Nucleic Acids Res. 2015. Vol. 43, № 21. P. e140.
172. Eden E. et al. GOrilla: a tool for discovery and visualization of enriched GO terms in ranked gene lists // BMC Bioinformatics. 2009. Vol. 10. P. 48.
173. Supek F. et al. REVIGO summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms // PLoS One. 2011. Vol. 6, № 7. P. e21800.
174. Aliper A.M. et al. Signaling pathway activation drift during aging: Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome fibroblasts are comparable to normal middle-age and old-age cells // Aging . 2015. Vol. 7, № 1. P. 26–37.

175. Misteli T. HGPS-derived iPSCs for the ages // Cell Stem Cell. 2011. Vol. 8, № 1. P. 4–6.
176. Cadiñanos J. et al. From Immature Lamin to Premature Aging: Molecular Pathways and Therapeutic Opportunities // Cell Cycle. 2005. Vol. 4, № 12. P. 1732–1735.
177. Dreesen O., Stewart C.L. Accelerated aging syndromes, are they relevant to normal human aging? // Aging . 2011. Vol. 3, № 9. P. 889–895.
178. DeBusk F.L. The Hutchinson-Gilford progeria syndrome // J. Pediatr. 1972. Vol. 80, № 4. P. 697–724.
179. Csoka A.B. et al. Genome-scale expression profiling of Hutchinson-Gilford progeria syndrome reveals widespread transcriptional misregulation leading to mesodermal/mesenchymal defects and accelerated atherosclerosis // Aging Cell. 2004. Vol. 3, № 4. P. 235–243.
180. Eriksson M. et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome // Nature. 2003. Vol. 423, № 6937. P. 293–298.
181. De Sandre-Giovannoli A. et al. Lamin a truncation in Hutchinson-Gilford progeria // Science. 2003. Vol. 300, № 5628. P. 2055.
182. Olive M. et al. Cardiovascular pathology in Hutchinson-Gilford progeria: correlation with the vascular pathology of aging // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2010. Vol. 30, № 11. P. 2301–2309.
183. Liu Y. et al. DNA damage responses in progeroid syndromes arise from defective maturation of prelamin A // J. Cell Sci. 2006. Vol. 119, № Pt 22. P. 4644–4649.
184. Varela I. et al. Accelerated ageing in mice deficient in Zmpste24 protease is linked to p53 signalling activation // Nature. 2005. Vol. 437, № 7058. P. 564–568.
185. Liu B. et al. Genomic instability in laminopathy-based premature aging // Nat. Med. 2005. Vol. 11, № 7. P. 780–785.
186. Kolb T. et al. Lamin A and lamin C form homodimers and coexist in higher complex forms both in the nucleoplasmic fraction and in the lamina of cultured human cells // Nucleus. 2011. Vol. 2, № 5. P. 425–433.
187. Dauer W.T., Worman H.J. The Nuclear Envelope as a Signaling Node in Development and Disease // Dev. Cell. 2009. Vol. 17, № 5. P. 626–638.
188. Dechat T., Adam S.A., Goldman R.D. Nuclear lamins and chromatin: When structure meets function // Adv. Enzyme Regul. 2009. Vol. 49, № 1. P. 157–166.
189. Kind J., van Steensel B. Genome–nuclear lamina interactions and gene regulation // Curr. Opin. Cell Biol. 2010. Vol. 22, № 3. P. 320–325.

190. Kubben N. et al. Mapping of lamin A- and progerin-interacting genome regions // Chromosoma. 2012. Vol. 121, № 5. P. 447–464.
191. Collas P., Lund E.G., Oldenburg A.R. Closing the (nuclear) envelope on the genome: how nuclear lamins interact with promoters and modulate gene expression // Bioessays. 2014. Vol. 36, № 1. P. 75–83.
192. Pegoraro G., Misteli T. The central role of chromatin maintenance in aging // Aging . 2009. Vol. 1, № 12. P. 1017–1022.
193. Musich P.R., Zou Y. Genomic Instability and DNA Damage Responses in Progeria Arising from Defective Maturation of Prelamin A // Aging . 2009. Vol. 1, № 1. P. 28–37.
194. Fontana L. et al. Medical research: Treat ageing // Nature. 2014. Vol. 511, № 7510. P. 405–407.
195. Fontana L., Partridge L., Longo V.D. Extending Healthy Life Span--From Yeast to Humans // Science. 2010. Vol. 328, № 5976. P. 321–326.
196. Buzdin A.A. et al. Oncofinder, a new method for the analysis of intracellular signaling pathway activation using transcriptomic data // Front. Genet. 2014. Vol. 5. P. 55.
197. Buzdin A.A. et al. The OncoFinder algorithm for minimizing the errors introduced by the high-throughput methods of transcriptome analysis // Front Mol Biosci. 2014. Vol. 1. P. 8.
198. Borisov N.M. et al. Signaling pathways activation profiles make better markers of cancer than expression of individual genes // Oncotarget. 2014. Vol. 5, № 20. P. 10198–10205.
199. Spirin P.V. et al. Silencing AML1-ETO gene expression leads to simultaneous activation of both pro-apoptotic and proliferation signaling // Leukemia. 2014. Vol. 28, № 11. P. 2222–2228.
200. Zhavoronkov A. et al. Signaling pathway cloud regulation for in silico screening and ranking of the potential geroprotective drugs // Front. Genet. 2014. Vol. 5.
201. Lackner D.H. et al. A genomics approach identifies senescence-specific gene expression regulation // Aging Cell. 2014. Vol. 13, № 5. P. 946–950.
202. Gentleman R.C. et al. // Genome Biol. 2004. Vol. 5, № 10. P. R80.
203. Carey V.J. et al. Network structures and algorithms in Bioconductor // Bioinformatics. 2004. Vol. 21, № 1. P. 135–136.
204. Carvalho B.S., Irizarry R.A. A framework for oligonucleotide microarray preprocessing // Bioinformatics. 2010. Vol. 26, № 19. P. 2363–2367.
205. Kriete A. et al. Cell autonomous expression of inflammatory genes in biologically aged fibroblasts associated with elevated NF-kappaB activity // Immun. Ageing. 2008. Vol. 5. P. 5.
206. Wadlow R.C. et al. Systems-level modeling of cancer-fibroblast interaction // PLoS One. 2009.

Vol. 4, № 9. P. e6888.

207. Marji J. et al. Defective Lamin A-Rb Signaling in Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome and Reversal by Farnesyltransferase Inhibition // PLoS One. 2010. Vol. 5, № 6. P. e11132.

208. Plasilova M. et al. Discordant Gene Expression Signatures and Related Phenotypic Differences in Lamin A- and A/C-Related Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome (HGPS) // PLoS One. 2011. Vol. 6, № 6. P. e21433.

209. Dai C., Liu J. Inducing Pairwise Gene Interactions from Time-Series Data by EDA Based Bayesian Network // Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2005. Vol. 7. P. 7746–7749.

210. Dekker P. et al. Microarray-based identification of age-dependent differences in gene expression of human dermal fibroblasts // Mech. Ageing Dev. 2012. Vol. 133, № 7. P. 498–507.

211. Kalfalah F. et al. Inadequate mito-biogenesis in primary dermal fibroblasts from old humans is associated with impairment of PGC1A-independent stimulation // Exp. Gerontol. 2014. Vol. 56. P. 59–68.

212. Smyth G.K. limma: Linear Models for Microarray Data // Statistics for Biology and Health. P. 397–420.

213. Website [Electronic resource]. URL: https://CRAN.R-project.org/package=gplots (accessed: 27.12.2016).

214. Website [Electronic resource]. URL: http://CRAN.R−project.org/package=corrplot. (accessed: 27.12.2016).

215. Burt D. Testing statistical hypotheses of equivalence and noninferiority, 2nd edition Stefan Wellek (2010) ISBN : 978-1439808184; 431 pages; $109.95 Chapman & Hall/CRC; http://www.crcpress.com // Pharm. Stat. 2013. Vol. 12, № 3. P. 185–185.

216. Zhang Y. et al. Caspase-2 deficiency enhances aging-related traits in mice // Mech. Ageing Dev. 2007. Vol. 128, № 2. P. 213–221.

217. Ashcroft G.S., Horan M.A., Ferguson M.W. The effects of ageing on cutaneous wound healing in mammals // J. Anat. 1995. Vol. 187 (Pt 1). P. 1–26.

218. Shiraha H. Aging Fibroblasts Present Reduced Epidermal Growth Factor (EGF) Responsiveness Due to Preferential Loss of EGF Receptors // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275, № 25. P. 19343–19351.

219. Castello L. et al. Alternate-day fasting reverses the age-associated hypertrophy phenotype in rat heart by influencing the ERK and PI3K signaling pathways // Mech. Ageing Dev. 2011. Vol. 132, № 6-7. P. 305–314.

220. López-Otín C. et al. The hallmarks of aging // Cell. 2013. Vol. 153, № 6. P. 1194–1217.
221. Shurin G.V. et al. Regulation of dendritic cell expansion in aged athymic nude mice by FLT3 ligand // Exp. Gerontol. 2004. Vol. 39, № 3. P. 339–348.
222. Li Z. et al. Age-induced augmentation of p38 MAPK phosphorylation in mouse lung // Exp. Gerontol. 2011.
223. Marzetti E. et al. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2013. Vol. 45, № 10. P. 2288–2301.
224. Houédé N., Pourquier P. Targeting the genetic alterations of the PI3K-AKT-mTOR pathway: its potential use in the treatment of bladder cancers // Pharmacol. Ther. 2015. Vol. 145. P. 1–18.
225. Johnson T.E. Rapid Aging Rescue? // Science. 2013. Vol. 340, № 6138. P. 1299–1300.
226. Feige J.N. et al. From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions // Prog. Lipid Res. 2006. Vol. 45, № 2. P. 120–159.
227. Rittie L. UV-light-induced signal cascades and skin aging // Ageing Res. Rev. 2002. Vol. 1, № 4. P. 705–720.
228. Massagué J. TGF-β SIGNAL TRANSDUCTION // Annu. Rev. Biochem. 1998. Vol. 67, № 1. P. 753–791.
229. Han K.-H. et al. Alteration of the TGF-β/SMAD pathway in intrinsically and UV-induced skin aging // Mech. Ageing Dev. 2005. Vol. 126, № 5. P. 560–567.
230. Berstein L.M. Metformin in obesity, cancer and aging: addressing controversies // Aging . 2012. Vol. 4, № 5. P. 320–329.
231. Halicka H.D. et al. Potential anti-aging agents suppress the level of constitutive mTOR- and DNA damage- signaling // Aging . 2012. Vol. 4, № 12. P. 952–965.
232. Blagosklonny M.V. Progeria, rapamycin and normal aging: recent breakthrough // Aging . 2011. Vol. 3, № 7. P. 685–691.
233. Shor B. et al. Targeting mTOR globally in cancer: Thinking beyond rapamycin // Cell Cycle. 2009. Vol. 8, № 23. P. 3831–3837.
234. Le Vee M., Jouan E., Fardel O. Involvement of aryl hydrocarbon receptor in basal and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced expression of target genes in primary human hepatocytes // Toxicol. In Vitro. 2010. Vol. 24, № 6. P. 1775–1781.
235. Andersen M.E. et al. Genomic signatures and dose-dependent transitions in nasal epithelial responses to inhaled formaldehyde in the rat // Toxicol. Sci. 2008. Vol. 105, № 2. P. 368–383.

236. Sul D. et al. Gene expression profiling in lung tissues from rats exposed to formaldehyde // Arch. Toxicol. 2007. Vol. 81, № 8. P. 589–597.
237. Royland J.E. et al. Toluene effects on gene expression in the hippocampus of young adult, middle-age, and senescent Brown Norway Rats // Toxicol. Sci. 2012. Vol. 126, № 1. P. 193–212.
238. Fachin A.L. et al. Gene expression profiles in human lymphocytes irradiated in vitro with low doses of gamma rays // Radiat. Res. 2007. Vol. 168, № 6. P. 650–665.
239. Landis G., Shen J., Tower J. Gene expression changes in response to aging compared to heat stress, oxidative stress and ionizing radiation in Drosophila melanogaster // Aging . 2012. Vol. 4, № 11. P. 768–789.
240. Moskalev A. et al. Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and low dose of gamma-irradiation // PLoS One. 2014. Vol. 9, № 1. P. e86051.
241. Brown J.B. et al. Diversity and dynamics of the Drosophila transcriptome // Nature. 2014. Vol. 512, № 7515. P. 393–399.
242. Seong K.M. et al. Genome-wide analysis of low-dose irradiated male Drosophila melanogaster with extended longevity // Biogerontology. 2011. Vol. 12, № 2. P. 93–107.
243. Andreau K., Leroux M., Bouharrour A. Health and cellular impacts of air pollutants: from cytoprotection to cytotoxicity // Biochem. Res. Int. 2012. Vol. 2012. P. 493894.
244. Châtel A. et al. MAP kinase cell signaling pathway as biomarker of environmental pollution in the sponge Suberites domuncula // Ecotoxicology. 2011. Vol. 20, № 8. P. 1727–1740.
245. Eizirik D.L., Spencer P., Kisby G.E. Potential role of environmental genotoxic agents in diabetes mellitus and neurodegenerative diseases // Biochem. Pharmacol. 1996. Vol. 51, № 12. P. 1585–1591.
246. Beketov M.A. et al. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2013. Vol. 110, № 27. P. 11039–11043.
247. Dubrova Y.E. Radiation-induced transgenerational instability // Oncogene. 2003. Vol. 22, № 45. P. 7087–7093.
248. Walker D.M., Nicklas J.A., Walker V.E. The stress response resolution assay. II. Quantitative assessment of environmental agent/condition effects on cellular stress resolution outcomes in epithelium // Environ. Mol. Mutagen. 2013. Vol. 54, № 4. P. 281–293.
249. Ding L.-H. et al. Gene expression profiles of normal human fibroblasts after exposure to ionizing radiation: a comparative study of low and high doses // Radiat. Res. 2005. Vol. 164, № 1. P. 17–26.

250. Котеров А.Н. Проблемы поиска средств противолучевой защиты человека в свете достижений генетики старения // Радиац. биол. Радиоэкол. 2013. Vol. 53, № 5. P. 487–494.
251. Yunis R. et al. Genomic characterization of a three-dimensional skin model following exposure to ionizing radiation // J. Radiat. Res. 2012. Vol. 53, № 6. P. 860–875.
252. Turtoi A. et al. Gene expression profile of human lymphocytes exposed to (211)At alpha particles // Radiat. Res. 2010. Vol. 174, № 2. P. 125–136.
253. Kalanxhi E., Dahle J. Genome-wide microarray analysis of human fibroblasts in response to γ radiation and the radiation-induced bystander effect // Radiat. Res. 2012. Vol. 177, № 1. P. 35–43.
254. Hou J. et al. Gene profiling characteristics of radioadaptive response in AG01522 normal human fibroblasts // PLoS One. 2015. Vol. 10, № 4. P. e0123316.
255. Reiner A., Yekutieli D., Benjamini Y. Summary of low-dose radiation effects on health. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 2010.
256. GEO Accession viewer [Electronic resource]. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE59861 (accessed: 22.02.2019).
257. Reiner A., Yekutieli D., Benjamini Y. Identifying differentially expressed genes using false discovery rate controlling procedures // Bioinformatics. 2003. Vol. 19, № 3. P. 368–375.
258. The Gene Ontology Consortium. Gene Ontology Annotations and Resources // Nucleic Acids Res. 2012. Vol. 41, № D1. P. D530–D535.
259. Durinck S. et al. Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt // Nat. Protoc. 2009. Vol. 4, № 8. P. 1184–1191.
260. Durinck S. et al. BioMart and Bioconductor: a powerful link between biological databases and microarray data analysis // Bioinformatics. 2005. Vol. 21, № 16. P. 3439–3440.
261. Chen H., Boutros P.C. VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R // BMC Bioinformatics. 2011. Vol. 12. P. 35.
262. Kolde R., Vilo J. GOsummaries: an R Package for Visual Functional Annotation of Experimental Data // F1000Res. 2015.
263. Feng G. et al. Using the bioconductor GeneAnswers package to interpret gene lists // Methods Mol. Biol. 2012. Vol. 802. P. 101–112.
264. Kyriakis J.M., Avruch J. Protein kinase cascades activated by stress and inflammatory cytokines // Bioessays. 1996. Vol. 18, № 7. P. 567–577.
265. Minc E. et al. The human copper-zinc superoxide dismutase gene (SOD1) proximal promoter is

regulated by Sp1, Egr-1, and WT1 via non-canonical binding sites // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, № 1. P. 503–509.

266. Zagurovskaya M. et al. EGR-1 forms a complex with YAP-1 and upregulates Bax expression in irradiated prostate carcinoma cells // Oncogene. 2009. Vol. 28, № 8. P. 1121–1131.

267. Mechtcheriakova D. et al. Specificity, diversity, and convergence in VEGF and TNF-α signaling events leading to tissue factor up-regulation via EGR-1 in endothelial cells // The FASEB Journal. Federation of American Societies for Experimental Biology, 2001. Vol. 15, № 1. P. 230–242.

268. Yu J. et al. A network of p73, p53 and Egr1 is required for efficient apoptosis in tumor cells // Cell Death Differ. 2007. Vol. 14, № 3. P. 436–446.

269. Beyer T.A. et al. Fibroblast growth factor 22 and its potential role during skin development and repair // Exp. Cell Res. 2003. Vol. 287, № 2. P. 228–236.

270. Cizmecioglu O. et al. Cep152 acts as a scaffold for recruitment of Plk4 and CPAP to the centrosome // J. Cell Biol. 2010. Vol. 191, № 4. P. 731–739.

271. Lo K.W.-H., Kogoy J.M., Pfister K.K. The DYNLT3 light chain directly links cytoplasmic dynein to a spindle checkpoint protein, Bub3 // J. Biol. Chem. 2007. Vol. 282, № 15. P. 11205–11212.

272. Kano A. et al. IRF-1 Is an Essential Mediator in IFN-γ-Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis of Primary Cultured Hepatocytes // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1999. Vol. 257, № 3. P. 672–677.

273. Schlicher L. et al. SPATA2 promotes CYLD activity and regulates TNF−induced NF−κB signaling and cell death // EMBO Rep. EMBO Press, 2016. Vol. 17, № 10. P. 1485–1497.

274. Lee S.Y., Choi Y. TRAF1 and its biological functions // Adv. Exp. Med. Biol. 2007. Vol. 597. P. 25–31.

275. Liu B., Chen Y., St Clair D.K. ROS and p53: a versatile partnership // Free Radic. Biol. Med. 2008. Vol. 44, № 8. P. 1529–1535.

276. Oda K. et al. A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling // Mol. Syst. Biol. 2005. Vol. 1. P. 2005.0010.

277. Collu G.M., Hidalgo-Sastre A., Brennan K. Wnt–Notch signalling crosstalk in development and disease // Cell. Mol. Life Sci. Springer Basel, 2014. Vol. 71, № 18. P. 3553–3567.

278. Zimmermann P., David G. The syndecans, tuners of transmembrane signaling // FASEB J. 1999. Vol. 13 Suppl. P. S91–S100.

279. Bartlett A.H., Hayashida K., Park P.W. Molecular and cellular mechanisms of syndecans in tissue injury and inflammation // Mol. Cells. 2007. Vol. 24, № 2. P. 153–166.
280. Echtermeyer F. et al. Delayed wound repair and impaired angiogenesis in mice lacking syndecan-4 // J. Clin. Invest. 2001. Vol. 107, № 2. P. R9–R14.
281. Ingham P.W., McMahon A.P. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles // Genes Dev. 2001. Vol. 15, № 23. P. 3059–3087.
282. El-Saghire H. et al. Low doses of ionizing radiation induce immune-stimulatory responses in isolated human primary monocytes // Int. J. Mol. Med. 2013. Vol. 32, № 6. P. 1407–1414.
283. Bullions L.C., Levine A.J. The role of beta-catenin in cell adhesion, signal transduction, and cancer // Curr. Opin. Oncol. 1998. Vol. 10, № 1. P. 81–87.
284. Lundberg A.S. et al. Genes involved in senescence and immortalization // Curr. Opin. Cell Biol. 2000. Vol. 12, № 6. P. 705–709.
285. Rokudai S. et al. MOZ increases p53 acetylation and premature senescence through its complex formation with PML // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2013. Vol. 110, № 10. P. 3895–3900.
286. Rani S. et al. Effect of Dickkopf1 on the senescence of melanocytes: in vitro study // Arch. Dermatol. Res. 2018. Vol. 310, № 4. P. 343–350.
287. Lu S.C. Regulation of glutathione synthesis // Mol. Aspects Med. 2009. Vol. 30, № 1-2. P. 42–59.
288. Sherr C.J. Mammalian G1 cyclins // Cell. 1993. Vol. 73, № 6. P. 1059–1065.
289. Sun F. et al. Downregulation of CCND1 and CDK6 by miR−34a induces cell cycle arrest // FEBS. Wiley Online Library, 2008.
290. Merrill R.A. et al. Mechanism of neuroprotective mitochondrial remodeling by PKA/AKAP1 // PLoS Biol. 2011. Vol. 9, № 4. P. e1000612.
291. Carlucci A., Lignitto L., Feliciello A. Control of mitochondria dynamics and oxidative metabolism by cAMP, AKAPs and the proteasome // Trends Cell Biol. 2008. Vol. 18, № 12. P. 604–613.
292. Chen Z. et al. The architecture of the DNA replication origin recognition complex in Saccharomyces cerevisiae // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2008. Vol. 105, № 30. P. 10326–10331.
293. Chen Z., Cobb M.H. Regulation of stress-responsive mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways by TAO2 // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276, № 19. P. 16070–16075.
294. Raman M. et al. TAO kinases mediate activation of p38 in response to DNA damage // EMBO J.

2007. Vol. 26, № 8. P. 2005–2014.

295. Moskalev A.A. et al. Genetics and epigenetics of aging and longevity // Cell Cycle. 2014. Vol. 13, № 7. P. 1063–1077.

296. Bulterijs S. et al. It is time to classify biological aging as a disease // Front. Genet. 2015. Vol. 6. P. 205.

297. Moskalev A. et al. Geroprotectors.org: a new, structured and curated database of current therapeutic interventions in aging and age-related disease // Aging . 2015. Vol. 7, № 9. P. 616–628.

298. Ehninger D., Neff F., Xie K. Longevity, aging and rapamycin // Cell. Mol. Life Sci. 2014. Vol. 71, № 22. P. 4325–4346.

299. Bulterijs S. Metformin as a geroprotector // Rejuvenation Res. 2011. Vol. 14, № 5. P. 469–482.

300. Moskalev A. et al. Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic // Aging Cell. 2016. Vol. 15, № 3. P. 407–415.

301. Scannell J.W., Bosley J. When Quality Beats Quantity: Decision Theory, Drug Discovery, and the Reproducibility Crisis // PLoS One. 2016. Vol. 11, № 2. P. e0147215.

302. Bernabe R.D.C. et al. Decision theory and the evaluation of risks and benefits of clinical trials // Drug Discov. Today. 2012. Vol. 17, № 23-24. P. 1263–1269.

303. Rung J., Brazma A. Reuse of public genome-wide gene expression data // Nat. Rev. Genet. 2013. Vol. 14, № 2. P. 89–99.

304. Akella L.B., DeCaprio D. Cheminformatics approaches to analyze diversity in compound screening libraries // Curr. Opin. Chem. Biol. 2010. Vol. 14, № 3. P. 325–330.

305. Shepelin D. et al. Molecular pathway activation features linked with transition from normal skin to primary and metastatic melanomas in human // Oncotarget. 2016. Vol. 7, № 1. P. 656–670.

306. Aliper A. et al. In search for geroprotectors: in silico screening and in vitro validation of signalome-level mimetics of young healthy state // Aging . 2016. Vol. 8, № 9. P. 2127–2152.

307. Cho S., Hwang E.S. Fluorescence-based detection and quantification of features of cellular senescence // Methods Cell Biol. 2011. Vol. 103. P. 149–188.

308. Dimri G.P. et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1995. Vol. 92, № 20. P. 9363–9367.

309. Alexandrova E. et al. Large-scale profiling of signalling pathways reveals an asthma specific signature in bronchial smooth muscle cells // Oncotarget. 2016. Vol. 7, № 18. P. 25150–25161.

310. Friedlander T.W. et al. A phase II study of insulin-like growth factor receptor inhibition with

nordihydroguaiaretic acid in men with non-metastatic hormone-sensitive prostate cancer // Oncol. Rep. 2012. Vol. 27, № 1. P. 3–9.

311. Strong R. et al. Nordihydroguaiaretic acid and aspirin increase lifespan of genetically heterogeneous male mice // Aging Cell. 2008. Vol. 7, № 5. P. 641–650.

312. Mokhtari V. et al. A Review on Various Uses of N-Acetyl Cysteine // Cell J. 2017. Vol. 19, № 1. P. 11–17.

313. Shibuya M. et al. Effects of fasudil in acute ischemic stroke: results of a prospective placebo-controlled double-blind trial // J. Neurol. Sci. 2005. Vol. 238, № 1-2. P. 31–39.

314. Huentelman M.J. et al. Peripheral delivery of a ROCK inhibitor improves learning and working memory // Behav. Neurosci. 2009. Vol. 123, № 1. P. 218–223.

315. Song Y. et al. Rho kinase inhibitor fasudil protects against β-amyloid-induced hippocampal neurodegeneration in rats // CNS Neurosci. Ther. 2013. Vol. 19, № 8. P. 603–610.

316. Blagosklonny M.V. Validation of anti-aging drugs by treating age-related diseases // Aging . 2009. Vol. 1, № 3. P. 281–288.

317. Blagosklonny M.V. Koschei the immortal and anti-aging drugs // Cell Death Dis. 2014. Vol. 5. P. e1552.

318. Schlicker C. et al. Structure-based development of novel sirtuin inhibitors // Aging . 2011. Vol. 3, № 9. P. 852–872.

319. Gaman L., Stoian I., Atanasiu V. Can ageing be slowed?: Hormetic and redox perspectives // J. Med. Life. 2011. Vol. 4, № 4. P. 346–351.

320. Kasiotis K.M. et al. Resveratrol and related stilbenes: their anti-aging and anti-angiogenic properties // Food Chem. Toxicol. 2013. Vol. 61. P. 112–120.

321. Ergin V., Hariry R.E., Karasu C. Carbonyl stress in aging process: role of vitamins and phytochemicals as redox regulators // Aging Dis. 2013. Vol. 4, № 5. P. 276–294.

322. Makarev E. et al. Pathway activation profiling reveals new insights into age-related macular degeneration and provides avenues for therapeutic interventions // Aging . 2014. Vol. 6, № 12. P. 1064–1075.

323. Blagosklonny M.V. Prevention of cancer by inhibiting aging // Cancer Biol. Ther. 2008. Vol. 7, № 10. P. 1520–1524.

324. Blagosklonny M.V. Increasing healthy lifespan by suppressing aging in our lifetime: preliminary proposal // Cell Cycle. 2010. Vol. 9, № 24. P. 4788–4794.

325. Blagosklonny M.V. Aging-suppressants: cellular senescence (hyperactivation) and its

pharmacologic deceleration // Cell Cycle. 2009. Vol. 8, № 12. P. 1883–1887.
326. Blagosklonny M.V. Prospective treatment of age-related diseases by slowing down aging // Am. J. Pathol. 2012. Vol. 181, № 4. P. 1142–1146.
327. Cortese F. et al. Vive la radiorésistance!: converging research in radiobiology and biogerontology to enhance human radioresistance for deep space exploration and colonization // Oncotarget. 2018. Vol. 9, № 18. P. 14692–14722.
328. Spotheim-Maurizot M. Radioprotectors // Encyclopedia of Cancer. 2016. P. 3884–3887.
329. Citrin D. et al. Radioprotectors and mitigators of radiation-induced normal tissue injury // Oncologist. 2010. Vol. 15, № 4. P. 360–371.
330. Bentzen S.M. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology // Nat. Rev. Cancer. 2006. Vol. 6, № 9. P. 702–713.
331. Белогоров С.Б., Левента А.И. и др. Лекарственные средства специального и военного назначения [DOC] [Electronic resource]. URL: https://www.twirpx.com/file/1162708/ (accessed: 09.01.2019).
332. Reed D.J., Adamson L.F. Radiation-protective Drugs and Their Reaction Mechanisms. Noyes Data Corporation/Noyes Publications, 1985. 146 p.
333. Domina E.A. Anty radiation means: classification and mechanisms // Probl Radiac Med Radiobiol. 2015. Vol. 20. P. 42–54.
334. Upadhyay S.N. et al. Chemical Radioprotectors // Def. Sci. J. 2005. Vol. 55, № 4. P. 403–425.
335. Zheng L. et al. MiR-106b induces cell radioresistance via the PTEN/PI3K/AKT pathways and p21 in colorectal cancer // J. Transl. Med. 2015. Vol. 13. P. 252.
336. Mukherjee G. et al. Biologic factors and response to radiotherapy in carcinoma of the cervix // Int. J. Gynecol. Cancer. 2001. Vol. 11, № 3. P. 187–193.
337. Miller A.C. et al. Increased radioresistance of EJras-transformed human osteosarcoma cells and its modulation by lovastatin, an inhibitor of p21ras isoprenylation // Int. J. Cancer. 1993. Vol. 53, № 2. P. 302–307.
338. Guo G. et al. Manganese superoxide dismutase-mediated gene expression in radiation-induced adaptive responses // Mol. Cell. Biol. 2003. Vol. 23, № 7. P. 2362–2378.
339. Fu C.G. et al. Role of p53 and p21/WAF1 detection in patient selection for preoperative radiotherapy in rectal cancer patients // Dis. Colon Rectum. 1998. Vol. 41, № 1. P. 68–74.
340. Huang M.-Y. et al. CDC25A, VAV1, TP73, BRCA1 and ZAP70 gene overexpression correlates with radiation response in colorectal cancer // Oncol. Rep. 2011. Vol. 25, № 5. P. 1297–1306.

341. Falck J. et al. The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis // Nature. 2001. Vol. 410, № 6830. P. 842–847.
342. Busino L. et al. Degradation of Cdc25A by beta-TrCP during S phase and in response to DNA damage // Nature. 2003. Vol. 426, № 6962. P. 87–91.
343. Wu B. et al. [Expression of radioresistant genes survivin and HO-1 in mesenchymal stem cells] // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2011. Vol. 19, № 3. P. 805–808.
344. Luo J. et al. Upregulation of Ying Yang 1 (YY1) suppresses esophageal squamous cell carcinoma development through heme oxygenase-1 // Cancer Sci. 2013. Vol. 104, № 11. P. 1544–1551.
345. Carón R.W. et al. H-RAS V12-induced radioresistance in HCT116 colon carcinoma cells is heregulin dependent // Mol. Cancer Ther. 2005. Vol. 4, № 2. P. 243–255.
346. Isohashi F. et al. Insulin-like growth factor stimulation increases radiosensitivity of a pancreatic cancer cell line through endoplasmic reticulum stress under hypoxic conditions // Cancer Sci. 2008. Vol. 99, № 12. P. 2395–2401.
347. Kesanakurti D. et al. A novel interaction of PAK4 with PPARγ to regulate Nox1 and radiation-induced epithelial-to-mesenchymal transition in glioma // Oncogene. 2017. Vol. 36, № 37. P. 5309–5320.
348. Zand H. et al. Docosahexaenoic acid sensitizes Ramos cells to Gamma-irradiation-induced apoptosis through involvement of PPAR-gamma activation and NF-kappaB suppression // Mol. Cell. Biochem. 2008. Vol. 317, № 1-2. P. 113–120.
349. Guan Z. et al. Aurora-A, a negative prognostic marker, increases migration and decreases radiosensitivity in cancer cells // Cancer Res. 2007. Vol. 67, № 21. P. 10436–10444.
350. Woo J.K. et al. Daurinol Enhances the Efficacy of Radiotherapy in Lung Cancer via Suppression of Aurora Kinase A/B Expression // Mol. Cancer Ther. 2015. Vol. 14, № 7. P. 1693–1704.
351. Gubits R.M., Geard C.R., Schiff P.B. Expression of immediate early genes after treatment of human astrocytoma cells with radiation and taxol // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1993. Vol. 27, № 3. P. 637–642.
352. Прошлое и будущее радиобиологии противолучевых средств в Институте биофизики Минздрава СССР - ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России [Electronic resource]. URL: http://nuclphys.sinp.msu.ru/mrrs/mrrs07.htm (accessed: 16.03.2019).
353. Blaser M.J., Webb G.F. Host Demise as a Beneficial Function of Indigenous Microbiota in Human Hosts // MBio. 2014. Vol. 5, № 6. P. e02262–14.

354. Baker G.T. 3rd, Sprott R.L. Biomarkers of aging // Exp. Gerontol. 1988. Vol. 23, № 4-5. P. 223–239.
355. Simm A. et al. Potential biomarkers of ageing // Biol. Chem. 2008. Vol. 389, № 3. P. 257–265.
356. Johnson T.E. Recent results: biomarkers of aging // Exp. Gerontol. 2006. Vol. 41, № 12. P. 1243–1246.
357. Hühne R., Thalheim T., Sühnel J. AgeFactDB--the JenAge Ageing Factor Database--towards data integration in ageing research // Nucleic Acids Res. 2014. Vol. 42, № Database issue. P. D892–D896.
358. Tacutu R. et al. Human Ageing Genomic Resources: integrated databases and tools for the biology and genetics of ageing // Nucleic Acids Res. 2013. Vol. 41, № Database issue. P. D1027–D1033.
359. Dongre P.M., Joshi A. A systematic organization of bioinformatics database of radiosensitizers and radioprotectors // Journal of Radiation and Cancer Research. 2018. Vol. 9, № 2. P. 102.
360. Wang L., Li X., Wang Z. Whole body radioprotective effect of phenolic extracts from the fruits of Malus baccata (Linn.) Borkh // Food Funct. 2016. Vol. 7, № 2. P. 975–981.
361. Prasanna P.G.S. et al. Radioprotectors and Radiomitigators for Improving Radiation Therapy: The Small Business Innovation Research (SBIR) Gateway for Accelerating Clinical Translation // Radiat. Res. 2015. Vol. 184, № 3. P. 235–248.
362. Wang Y. et al. PubChem: a public information system for analyzing bioactivities of small molecules // Nucleic Acids Res. 2009. Vol. 37, № Web Server issue. P. W623–W633.
363. Wang Y. et al. PubChem BioAssay: 2014 update // Nucleic Acids Res. 2014. Vol. 42, № Database issue. P. D1075–D1082.
364. Brooksbank C., Cameron G., Thornton J. The European Bioinformatics Institute's data resources: towards systems biology // Nucleic Acids Res. 2005. Vol. 33, № Database issue. P. D46–D53.
365. Degtyarenko K. et al. ChEBI: a database and ontology for chemical entities of biological interest // Nucleic Acids Res. 2008. Vol. 36, № Database issue. P. D344–D350.
366. Hastings J. et al. The ChEBI reference database and ontology for biologically relevant chemistry: enhancements for 2013 // Nucleic Acids Res. 2012. Vol. 41, № D1. P. D456–D463.
367. Gaulton A. et al. ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery // Nucleic Acids Res. 2012. Vol. 40, № Database issue. P. D1100–D1107.
368. Willighagen E.L. et al. The ChEMBL database as linked open data // J. Cheminform. 2013. Vol.

5, № 1. P. 23.
369. Davies M. et al. ChEMBL web services: streamlining access to drug discovery data and utilities // Nucleic Acids Res. 2015. Vol. 43, № W1. P. W612–W620.
370. ChemSpider and Its Expanding Web // Chemistry International -- Newsmagazine for IUPAC. 2008. Vol. 30, № 1.
371. Pence H.E., Williams A. ChemSpider: An Online Chemical Information Resource // J. Chem. Educ. 2010. Vol. 87, № 11. P. 1123–1124.
372. Williams A.J. et al. ChemSpider - building a foundation for the semantic web by hosting a crowd sourced databasing platform for chemistry // J. Cheminform. 2010. Vol. 2, № Suppl 1. P. O16.
373. Wishart D.S. et al. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration // Nucleic Acids Res. 2006. Vol. 34, № Database issue. P. D668–D672.
374. Wishart D.S. et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets // Nucleic Acids Res. 2008. Vol. 36, № Database issue. P. D901–D906.
375. Knox C. et al. DrugBank 3.0: a comprehensive resource for “Omics” research on drugs // Nucleic Acids Res. 2010. Vol. 39, № Database. P. D1035–D1041.
376. Law V. et al. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism // Nucleic Acids Res. 2013. Vol. 42, № D1. P. D1091–D1097.
377. Hewett M. et al. PharmGKB: the Pharmacogenetics Knowledge Base // Nucleic Acids Res. 2002. Vol. 30, № 1. P. 163–165.
378. Kuhn M. et al. A side effect resource to capture phenotypic effects of drugs // Mol. Syst. Biol. 2010. Vol. 6. P. 343.
379. Chen X., Ji Z.L., Chen Y.Z. TTD: Therapeutic Target Database // Nucleic Acids Res. 2002. Vol. 30, № 1. P. 412–415.
380. Qin C. et al. Therapeutic target database update 2014: a resource for targeted therapeutics // Nucleic Acids Res. 2014. Vol. 42, № Database issue. P. D1118–D1123.
381. Kanehisa M. et al. The KEGG resource for deciphering the genome // Nucleic Acids Res. 2004. Vol. 32, № Database issue. P. D277–D280.
382. Wishart D.S. et al. HMDB: the Human Metabolome Database // Nucleic Acids Res. 2007. Vol. 35, № Database issue. P. D521–D526.
383. Wishart D.S. et al. HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013 // Nucleic Acids Res. 2012. Vol. 41, № D1. P. D801–D807.
384. Wexler P. TOXNET: an evolving web resource for toxicology and environmental health

information // Toxicology. 2001. Vol. 157, № 1-2. P. 3–10.

385. Hoofnagle J.H. et al. LiverTox: a website on drug-induced liver injury // Hepatology. 2013. Vol. 57, № 3. P. 873–874.

386. Edgar R., Domrachev M., Lash A.E. Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository // Nucleic Acids Res. 2002. Vol. 30, № 1. P. 207–210.

387. Barrett T. et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--10 years on // Nucleic Acids Res. 2010. Vol. 39, № Database. P. D1005–D1010.

388. Duan Q. et al. LINCS Canvas Browser: interactive web app to query, browse and interrogate LINCS L1000 gene expression signatures // Nucleic Acids Res. 2014. Vol. 42, № Web Server issue. P. W449–W460.

389. UniProt Consortium. The Universal Protein Resource (UniProt) // Nucleic Acids Res. 2007. Vol. 35, № Database issue. P. D193–D197.

390. Zarin D.A. et al. The ClinicalTrials.gov results database--update and key issues // N. Engl. J. Med. 2011. Vol. 364, № 9. P. 852–860.

391. New Look for ClinicalTrials.gov. U.S. National Library of Medicine, 2007.

392. Ormsby R.J. et al. Protection from radiation-induced apoptosis by the radioprotector amifostine (WR-2721) is radiation dose dependent // Cell Biol. Toxicol. 2014. Vol. 30, № 1. P. 55–66.

393. Zanni G. et al. Lithium increases proliferation of hippocampal neural stem/progenitor cells and rescues irradiation-induced cell cycle arrest in vitro // Oncotarget. 2015. Vol. 6, № 35. P. 37083–37097.

394. Marampon F. et al. Vitamin D protects endothelial cells from irradiation-induced senescence and apoptosis by modulating MAPK/SirT1 axis // J. Endocrinol. Invest. 2016. Vol. 39, № 4. P. 411–422.

395. Mastromarino A., Wilson R. Antibiotic radioprotection of mice exposed to supralethal whole-body irradiation independent of antibacterial activity // Radiat. Res. 1976. Vol. 68, № 2. P. 329–338.

396. Dalrymple G.V. et al. The Effect of 2,4-Dinitrophenol on the Repair of Radiation Injury by L Cells // Radiat. Res. 1969. Vol. 37, № 1. P. 90.

397. Ahire V., Kp M. Ellagic Acid as a Potential Anti-Cancer Drug // IJRRT. 2017. Vol. 3, № 3.

398. Sugisawa A., Umegaki K., Yamada K. Protective Effect of Tea Catechin against X-ray-induced Chromosomal Damage // JJSNFS. 2003. Vol. 56, № 2. P. 85–90.

399. Laval F., Little J.B. Enhancement of survival of X-irradiated mammalian cells by the uncoupler

of oxidative phosphorylation, m-chloro carbonyl cyanide phenylhydrazone // Radiat. Res. 1977. Vol. 71, № 3. P. 571–578.

400. Haskins A.H. et al. Palmitoyl ascorbic acid 2-glucoside has the potential to protect mammalian cells from high-LET carbon-ion radiation // Sci. Rep. 2018. Vol. 8, № 1. P. 13822.
401. Seymour C.B. et al. Monoamine oxidase inhibitors l-deprenyl and clorgyline protect nonmalignant human cells from ionising radiation and chemotherapy toxicity // Br. J. Cancer. 2003. Vol. 89, № 10. P. 1979–1986.
402. Brown S.L. et al. Histone deacetylase inhibitors protect against and mitigate the lethality of total-body irradiation in mice // Radiat. Res. 2008. Vol. 169, № 4. P. 474–478.
403. Bishayee A., Rao D.V., Howell R.W. Radiation protection by cysteamine against the lethal effects of intracellularly localized Auger electron, alpha- and beta-particle emitting radionuclides // Acta Oncol. 2000. Vol. 39, № 6. P. 713–720.
404. Chatterjee A. Reduced glutathione: a radioprotector or a modulator of DNA-repair activity? // Nutrients. 2013. Vol. 5, № 2. P. 525–542.
405. Patil S.L., Mallaiah S.H., Patil R.K. Antioxidative and radioprotective potential of rutin and quercetin in Swiss albino mice exposed to gamma radiation // J. Med. Phys. 2013. Vol. 38, № 2. P. 87–92.
406. Piao M.J. et al. Protective Effect of Fisetin (3,7,3’,4'-Tetrahydroxyflavone) against γ-Irradiation-Induced Oxidative Stress and Cell Damage // Biomol. Ther. . 2013. Vol. 21, № 3. P. 210–215.
407. Shin H.A. et al. Radioprotective effect of epicatechin in cultured human fibroblasts and zebrafish // J. Radiat. Res. 2014. Vol. 55, № 1. P. 32–40.
408. Tung D. et al. Differential effects of cyclosporin and etanercept treatment on various pathologic parameters in a murine model of irradiation-induced mucositis // Curr. Ther. Res. Clin. Exp. 2012. Vol. 73, № 4-5. P. 150–164.
409. Zhou Y. et al. Radioprotective effects of valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, in the rat brain // Biomed Rep. 2015. Vol. 3, № 1. P. 63–69.
410. Xu G. et al. Metformin ameliorates ionizing irradiation-induced long-term hematopoietic stem cell injury in mice // Free Radic. Biol. Med. 2015. Vol. 87. P. 15–25.
411. Xu W. et al. Protective effects of rosmarinic acid against radiation-induced damage to the hematopoietic system in mice // J. Radiat. Res. 2016. Vol. 57, № 4. P. 356–362.
412. Zhu Z. et al. Prevention of irradiation-induced salivary hypofunction by rapamycin in swine

parotid glands // Oncotarget. 2016. Vol. 7, № 15. P. 20271–20281.

413. Proshkina E. et al. Geroprotective and Radioprotective Activity of Quercetin, (-)-Epicatechin, and Ibuprofen in // Front. Pharmacol. 2016. Vol. 7. P. 505.

414. Mangoni M. et al. A PPAR-gamma agonist protects from radiation-induced intestinal toxicity // United European Gastroenterol J. 2017. Vol. 5, № 2. P. 218–226.

415. Koohian F. et al. The Radioprotective Effect of Resveratrol Against Genotoxicity Induced by γ-Irradiation in Mice Blood Lymphocytes // Dose Response. 2017. Vol. 15, № 2. P. 1559325817705699.

416. Yang H. et al. Simvastatin ameliorates ionizing radiation-induced apoptosis in the thymus by activating the AKT/sirtuin 1 pathway in mice // Int. J. Mol. Med. 2017. Vol. 40, № 3. P. 762–770.

417. Farooqi Z., Kesavan P.C. Radioprotection by caffeine pre- and post-treatment in the bone marrow chromosomes of mice given whole-body gamma-irradiation // Mutat. Res. 1992. Vol. 269, № 2. P. 225–230.

418. Floersheim G.L. Calcium antagonists protect mice against lethal doses of ionizing radiation // Br. J. Radiol. 1992. Vol. 65, № 779. P. 1025–1029.

419. Grillo C.A., Dulout F.N. Butylated hydroxytoluene does not protect Chinese hamster ovary cells from chromosomal damage induced by high-dose rate 192Ir irradiation // Mutagenesis. 2006. Vol. 21, № 6. P. 405–410.

420. Declercq L. et al. Use of the synthetic superoxide dismutase/catalase mimetic EUK-134 to compensate for seasonal antioxidant deficiency by reducing pre-existing lipid peroxides at the human skin surface // Int. J. Cosmet. Sci. 2004. Vol. 26, № 5. P. 255–263.

421. Devipriya N., Sudheer A.R., Menon V.P. Caffeic acid protects human peripheral blood lymphocytes against gamma radiation-induced cellular damage // J. Biochem. Mol. Toxicol. 2008. Vol. 22, № 3. P. 175–186.

422. You W.C. et al. Indigowood root extract protects hematopoietic cells, reduces tissue damage and modulates inflammatory cytokines after total-body irradiation: does Indirubin play a role in radioprotection? // Phytomedicine. 2009. Vol. 16, № 12. P. 1105–1111.

423. Theriot C.A. et al. Dendro[C(60)]fullerene DF-1 provides radioprotection to radiosensitive mammalian cells // Radiat. Environ. Biophys. 2010. Vol. 49, № 3. P. 437–445.

424. Bing S.J. et al. 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose protects splenocytes against radiation-induced apoptosis in murine splenocytes // Biol. Pharm. Bull. 2010. Vol. 33, № 7. P.

1122–1127.
425. Tanaka R.A. et al. Evaluation of radioprotective effect of carnosine (beta- alanyl-1- histidine) on the wound healing in rats // J. Appl. Oral Sci. 2005. Vol. 13, № 3. P. 253–258.
426. Kashino G. et al. An alternative mechanism for radioprotection by dimethyl sulfoxide; possible facilitation of DNA double-strand break repair // J. Radiat. Res. 2010. Vol. 51, № 6. P. 733–740.
427. Shaposhnikov M.V., Danilov A.A., Moskalev A.A. [Pharmacological PI 3-kinase inhibitors induce radioprotective effect in Drosophila melanogaster imago] // Radiats. Biol. Radioecol. 2010. Vol. 50, № 6. P. 649–655.
428. Miller A.C. et al. Radioprotection by the histone deacetylase inhibitor phenylbutyrate // Radiat. Environ. Biophys. 2011. Vol. 50, № 4. P. 585–596.
429. Grebeniuk A.N. et al. [The experimental evaluation of antiradiation effectiveness of beta-estradiol on survival rates and bone marrow hemopoiesis of X-ray irradiated mice] // Radiats. Biol. Radioecol. 2012. Vol. 52, № 2. P. 175–180.
430. Monzen S., Kashiwakura I. Radioprotective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on human erythrocyte/granulocyte lineages // Radiat. Prot. Dosimetry. 2012. Vol. 152, № 1-3. P. 224–228.
431. Mehrotra S., Pecaut M.J., Gridley D.S. Analysis of minocycline as a countermeasure against acute radiation syndrome // In Vivo. 2012. Vol. 26, № 5. P. 743–758.
432. Zheng J. et al. 10-Hydroxy-2-decenoic acid prevents ultraviolet A-induced damage and matrix metalloproteinases expression in human dermal fibroblasts // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2013. Vol. 27, № 10. P. 1269–1277.
433. Gandhi N.M. Baicalein protects mice against radiation-induced DNA damages and genotoxicity // Mol. Cell. Biochem. 2013. Vol. 379, № 1-2. P. 277–281.
434. Nair G.G., Nair C.K.K. Radioprotective effects of gallic acid in mice // Biomed Res. Int. 2013. Vol. 2013. P. 953079.
435. Allaveisi F., Hashemi B., Mortazavi S.M.J. Radioprotective effect of N-acetyl-L-cysteine free radical scavenger on compressive mechanical properties of the gamma sterilized cortical bone of bovine femur // Cell Tissue Bank. 2015. Vol. 16, № 1. P. 97–108.
436. Song L. et al. Radioprotective effects of genistein on HL-7702 cells via the inhibition of apoptosis and DNA damage // Cancer Lett. 2015. Vol. 366, № 1. P. 100–111.
437. Demirel C. et al. Inhibition of Radiation-Induced Oxidative Damage in the Lung Tissue: May Acetylsalicylic Acid Have a Positive Role? // Inflammation. 2016. Vol. 39, № 1. P. 158–165.
438. Wang L., Li X., Wang Z. Whole body radioprotective effect of phenolic extracts from the fruits

of Malus baccata (Linn.) Borkh // Food Funct. 2016. Vol. 7, № 2. P. 975–981.
439. Cohen E.P., Fish B.L., Moulder J.E. Clinically Relevant Doses of Enalapril Mitigate Multiple Organ Radiation Injury // Radiat. Res. 2016. Vol. 185, № 3. P. 313–318.
440. Jeong B.K. et al. Effect of alpha-lipoic acid on radiation-induced small intestine injury in mice // Oncotarget. 2016. Vol. 7, № 12. P. 15105–15117.
441. Hoşgörler F. et al. Anti-inflammatory and Anti-apoptotic Effect of Valproic Acid and Doxycycline Independent from MMP Inhibition in Early Radiation Damage // Balkan Med. J. 2016. Vol. 33, № 5. P. 488–495.
442. Hosseinimehr S.J. et al. Celecoxib mitigates genotoxicity induced by ionizing radiation in human blood lymphocytes // Res. Pharm. Sci. 2017. Vol. 12, № 1. P. 82–87.
443. Tang F.R. et al. Radioprotective effect of ursolic acid in radiation-induced impairment of neurogenesis, learning and memory in adolescent BALB/c mouse // Physiol. Behav. 2017. Vol. 175. P. 37–46.
444. Nguyen M.-H. et al. Radioprotective activity of curcumin-encapsulated liposomes against genotoxicity caused by Gamma Cobalt-60 irradiation in human blood cells // Int. J. Radiat. Biol. 2017. Vol. 93, № 11. P. 1267–1273.
445. Wang J. et al. Kaempferol protects against gamma radiation-induced mortality and damage via inhibiting oxidative stress and modulating apoptotic molecules in vivo and vitro // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2018. Vol. 60. P. 128–137.
446. Amini P. et al. Mechanisms for radioprotection by melatonin; can it be used as a radiation countermeasure? // Curr. Mol. Pharmacol. 2018.
447. González E. et al. Evidence that the radioprotector effect of ascorbic acid depends on the radiation dose rate // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2018. Vol. 62. P. 210–214.
448. Li L. et al. Protective effect of polydatin on radiation-induced injury of intestinal epithelial and endothelial cells // Biosci. Rep. 2018. Vol. 38, № 6.
449. Davey P., Grieve F., Ranaldi V.A. Radioprotection of rat subependymal plate with 4-OH sodium butyrate // NCI Monogr. 1988. № 6. P. 231–234.
450. Spotheim-Maurizot M. et al. Radioprotection of DNA by polyamines // Int. J. Radiat. Biol. 1995. Vol. 68, № 5. P. 571–577.
451. Held K.D., Hopcia K.L. Role of protein thiols in intrinsic radiation protection of DNA and cells // Mutat. Res. 1993. Vol. 299, № 3-4. P. 261–269.
452. Stanton J. et al. Protection of DNA from high LET radiation by two OH radical scavengers, tris

(hydroxymethyl) aminomethane and 2-mercaptoethanol // Radiat. Environ. Biophys. 1993. Vol. 32, № 1. P. 21–32.

453. Yoshinaga K. et al. Protection by trehalose of DNA from radiation damage // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1997. Vol. 61, № 1. P. 160–161.

454. Sevcík J., Wilhelm J., Sonka J. Radioprotective effects of cyproterone acetate // Experientia. 1977. Vol. 33, № 11. P. 1534–1535.

455. Juchelková L. et al. Radioprotective effects of flurbiprofen and its nitroderivative // Physiol. Res. 1998. Vol. 47, № 1. P. 73–80.

456. Li Y. Brainstem-cortex synaptic plasticity in the trigeminal neuropathic pain // Clin Pharmacol Biopharm. 2016. Vol. 05, № 03.

Приложение

Таблица П1. Сравнение количества генов, участвующих в различных молекулярных процессах (в соответствии с KEGG и caBIO), которые увеличивают активность под воздействием ИИ. Статистически значимые различия выделены жирным шрифтом.

KEGG	Кол-во путей	CABIO.PATH	Кол-во путей
p53 сигнальный путь	**6**	**ATM сигнальный путь**	**5**
MAPK сигнальный путь	**9**	**p53 сигнальный путь**	**4**
ErbB сигнальный путь	5	**Апоптоз (свободные радикалы)**	**3**
Метаболизм ксенобиотиков комплексом P450	0	**Апоптоз (повреждение ДНК)**	**4**
Метаболизм лекарств комплексом P450	0	**Дифференциация кератиноцитов**	**5**
Метаболизм ретинола	0	**Клеточный цикл: Cell Cycle: G2/M Checkpoint**	**4**
Метаболизм триптофана	0	**Фосфорилирование MEK1 при помощи cdk5/p35 и снижение активности MAP-киназного сигнального пути**	**3**
Клеточный цикл	3	**Индукция стресса (HSP)**	**3**
Циркадный ритм	0	**Влияние кадмия на клетки**	**3**
Цитокин-цитокин взаимодействия	3	**Теломеры, теломераза, клеточное старение и бессмертие**	**3**
IgA синтез (в кишечнике)	0	4-1BB-зависимый иммунный ответ	0
Т-клеточный сигнальный путь (рецептор)	3	p38 MAPK сигнальный путь	0
Гепатит С	**7**	Окислительный стресс (Nrf2)	1
Боковой амиотрофический склероз	**6**	Цитокины	1
Прионные заболевания	4	Регуляция гемопоэза цитокианами	0
Ревматоидный артрит	1	Ответ на ацетаминофен	0
Болезнь Шагас	3	Msp/Ron сигнальный путь (рецептор)	1
Рак эндометрия	**6**	IL 6 сигнальный путь	1
Колоректальный рак	**6**	Цитокины и воспаление	1
Рак поджелудочной железы	**6**	Сигнальный путь, связанный с работой IFN-beta инхансера	0
Сигнальные пути рака	**10**	Общее количество генов	48
Рак желчного пузыря	**5**		
Рак простаты	**6**		
Глиома	5		
Меланома	5		
Хроническая миелоидная лейкемия	4		
Общее количество генов	48		

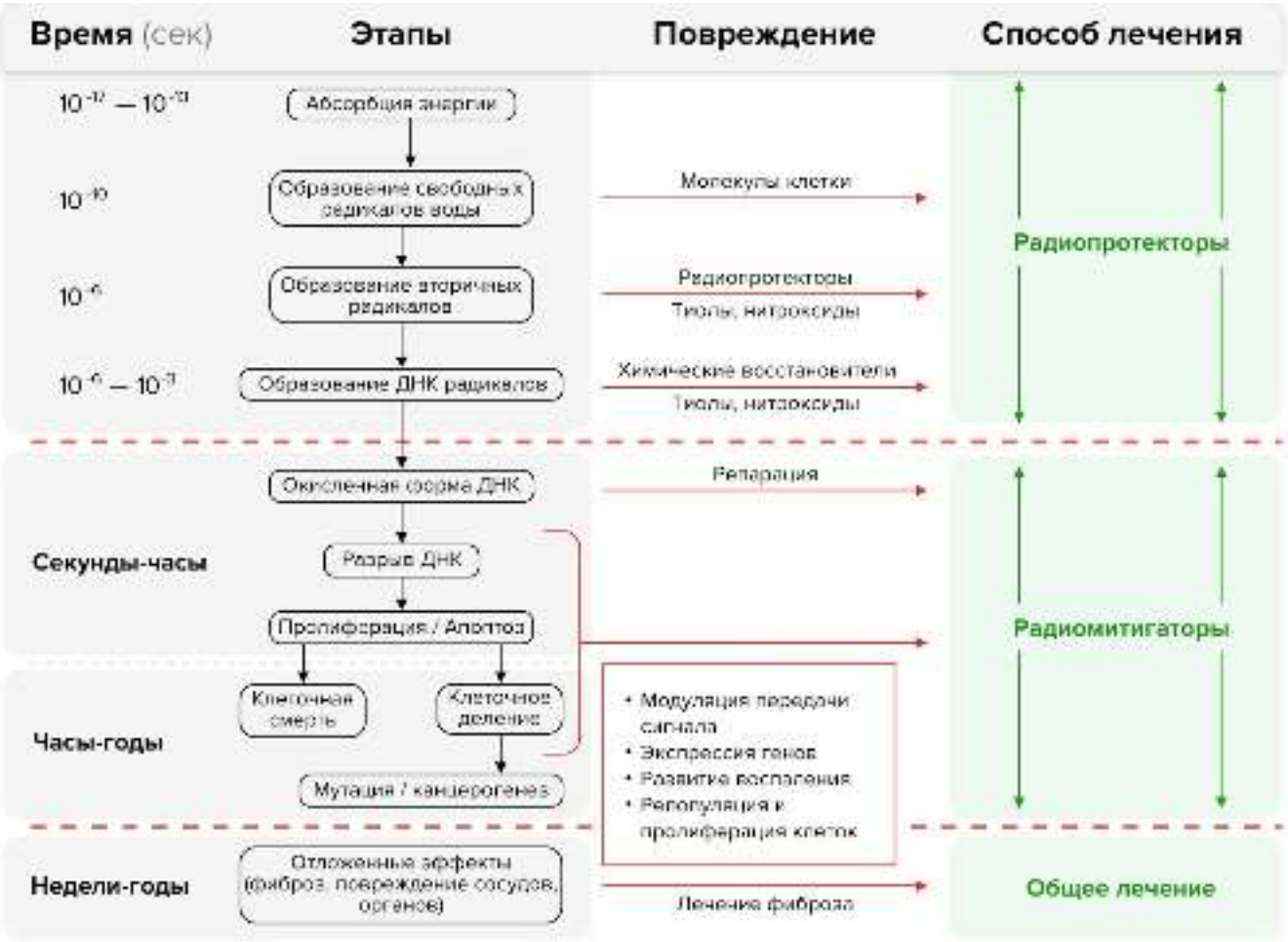

Рисунок П1. Последовательность событий после облучения. Диаграмма разделена на три части пунктирными линиями, указывающими на события и реакции, которые могут быть изменены радиопротекторами (вверху), радиомитигаторами и непосредственно лечением (внизу). По [329].

Таблица П2. Сравнение дифференциально экспрессированных генов (повышенная регуляция) для доз 5 сГр и 2 Гр.

Пересечения	Всего	Гены
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 3h_5cGy 6h_2Gy	1	GDF15
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	SESN2
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 3h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	PLXNB2
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	6	C12ORF65 ZNF425 RRAGC CHAC1 DDIT4 DDIT3
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	6	SOX4 ZNF232 OLFML2B BCDIN3D APCDD1 DCP1B
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	1	TRIM4
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy	3	ARHGEF3 POLH PPM1D
12h_2Gy 3h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	SPATA2
12h_2Gy 24h_2Gy 3h_5cGy 6h_2Gy	1	TOMM40L
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	MAVS
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	BDKRB2

Продолжение таблицы П2.

12h_2Gy 12h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	3	ZNF773 STC2 KCNE4
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	2	SHC3 MBP
12h_5cGy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy	1	PITPNM2
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy	1	DAPK1
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy	32	ATXN7L1 POLG2 ZFYVE1 MTHFR GNPDA1 ABCA1 ORAI3 DCLK1 ZNF552 PTGES AKNA HPS4 NIPAL4 SFRP2 KIAA1217 SVIL EGR2 SENP8 CTNS GRASP KIAA0513 FAM117A ZNF451 SLC22A15 ARMC9 ZNF589 MAP3K12 ANK1 INHBE ANGPTL2 KCTD7 DOCK3
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 3h_2Gy	1	BBC3
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 6h_2Gy	2	ZNF419 GDF5
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	2	OSBPL3 EDA2R
12h_2Gy 24h_2Gy 3h_2Gy 6h_2Gy	3	KRT17 SESN1 CDKN1A
12h_2Gy 24h_5cGy 3h_5cGy	1	USP29
24h_2Gy 24h_5cGy 3h_5cGy	1	DDX17
3h_2Gy 3h_5cGy 6h_2Gy	1	SUSD5
12h_5cGy 24h_5cGy 6h_5cGy	2	IP6K1 NIT1
12h_2Gy 12h_5cGy 6h_5cGy	2	TMEM177 TRAF1
12h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	ZNF785

Продолжение таблицы П2.		
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_5cGy	1	AKAP1
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy	25	KIF26B IRF2BP2 CLN8 NFATC4 ROR2 CLK2 MRGPRF TMEM140 TIGD2 EBF1 ZNF514 DNAJC18 SETBP1 FANCF CACNA2D3 VDR NFIX TPP1 HDAC11 CELF2 METTL7A IRF2 CDKN1C ZBTB44 PHF21A
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy	6	EVC2 ARPC3 COQ10A IFFO1 OGT ATG14
24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy	1	EFNB3
24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	1	ZRSR2
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy	16	RFX5 SERPINF1 GPNMB ZSCAN30 SCIN PELI3 NYNRIN DHRS3 ATF4 MMP11 NFX1 MAP4K4 N4BP2L1 MAMDC2 ABHD6 SLC2A11
24h_2Gy 3h_2Gy 6h_2Gy	1	TMEM217
12h_2Gy 24h_2Gy 3h_2Gy	1	BTG2
12h_2Gy 24h_2Gy 6h_2Gy	7	STOM POU2F2 ZMAT3 MDM2 TP53INP1 BCL2L1 TNFRSF10B
3h_5cGy 6h_5cGy	1	HECTD2
3h_2Gy 3h_5cGy	4	SPERT FGF22 PHLDB1 SMARCE1
12h_5cGy 6h_5cGy	2	ISL2 BCL2L11
24h_5cGy 6h_5cGy	1	ZMIZ1
3h_2Gy 6h_5cGy	2	TAOK2 AKT2
12h_2Gy 6h_5cGy	1	DLL1
24h_2Gy 6h_5cGy	3	ZNF549 MAF CH25H
12h_5cGy 24h_5cGy	11	USP30 KIAA1958 PAQR8 TAF4 RERE ZNF618 MKNK2 CTDSPL ZNF671 C2ORF68 YPEL2
12h_5cGy 3h_2Gy	1	ZNF638
12h_5cGy 6h_2Gy	2	SSH2 PALMD
12h_2Gy 12h_5cGy	20	TET3 APOL6 TSC22D3 ARHGEF2 KLF4 JRK PPP1R10 VEGFA CEP68 PEX11B LIMK2 C1ORF109 PPM1B ZNF691 PRKD2 DAB2IP TNRC6C PPFIBP2 CASKIN2 KCNN2
12h_5cGy 24h_2Gy	3	CRYM ZSCAN21 RUNX2
24h_5cGy 6h_2Gy	1	ZNF77
12h_2Gy 24h_5cGy	2	TNNT3 KHNYN

Продолжение таблицы П2.		
3h_2Gy 6h_2Gy	4	LCA5L NIPAL2 KLK3 SDHA
12h_2Gy 3h_2Gy	1	FAM43A
24h_2Gy 3h_2Gy	2	EPB41L1 VWA2
12h_2Gy 6h_2Gy	2	PSTPIP2 HKR1
24h_2Gy 6h_2Gy	3	C21ORF91 MALAT1 TNFRSF10D
12h_2Gy 24h_2Gy	20	PHLDA3 FBXO22 DDB2 SIRT4 ZNF79 VWCE RAD52 SPP1 PARD6G GIGYF2 WSB1 SLC7A8 CAMK2G B3GALT4 CCNG1 WBP2 TMEM144 FDXR KDSR GGA2
3h_5cGy	19	ITGA5 TRIO CXADR SFSWAP HLA-DPB2 CYP4F3 HBD SPEN TMC6 RPH3AL SASH1 PPIL2 ELF2 TCF7L2 HIPK2 ASXL1 NES SLFN5 ADAMTSL1
6h_5cGy	19	ADAM12 DNAI1 RAPGEF6 RIPK4 C1ORF74 ZNF275 NSD1 ZBTB7A PCID2 PRDM1 ZCCHC14 TXLNG EGFR CCDC96 SNHG12 RAD54L2 UBTF MTMR3 ABLIM1
12h_5cGy	41	TNIK PACSIN2 LYSMD4 VGLL3 CORO2A CPEB3 LOC100133091 MTMR14 ZNF774 FRAT1 CPEB1 CCNG2 MMAB KIAA0586 CLDN23 KALRN SPSB2 ZNF599 NAGS KDM3B FMNL1 NDE1 SMYD4 BDH1 RCCD1 SH3BP2 BCORL1 NDST2 CKAP2 CENPP CNP BCL11A WWP2 C9ORF40 FBXO39 BMP2K PXK AANAT SUOX TRIM68 FZR1
24h_5cGy	114	MMP2 TACC2 NHLRC3 HSD17B2 PELI2 TNS3 AMBP BBS12 NEURL2 GFPT2 MAOA HBZ FZD2 IFT140 SLC6A6 CARD8 NUDT7 SLC9A9 CNOT1 SPTBN1 MRPL34 KLHDC7B TSC2 ZNF318 GLIS2 POU6F1 NEK6 RALGPS1 LEF1 ZNF236 SOX30 MYF5 CREBBP RAB9B LPCAT2 TSHZ1 PDK2 GNS SECTM1 MEGF8 TRIM56 ZNF740 DPY19L3 BMP4 SIK2 LAMA1 TRERF1 SLC31A2 ZBTB4 HEG1 CCDC8 SPATA24 ROCK1 PTPRK WDR81 GLIS1 SAP30L ZNF775 VAC14 KDM5B RBM4B NBEAL2 HNRNPD OR4F15 TAF1A F2RL2 CRABP2 TGFB3 FOXRED2 FMO3 CARD10 MXI1 ZFP36L1 WNT2 BRD7 ATF2 ANAPC16 MAPK3 PRDM10 CELSR1 ABCB4 RTP4 ST14 ZNF169 BFSP1 XKR6 DCAF10 ANGEL2 GDE1 SPSB1 MGAT3 IDUA WDR48 ZNF488 PDGFRA ZC3H10 STAC LRP4 CPE IGF2R GPRC5B ZNF2 SYNPO PRELP PMP22 SNED1 GEM ZNF341 PARD3 CDA GAB1 APPL1 CD3E ART5
3h_2Gy	149	KPNA7 AEN IGF1 EPB41L4B PRKCG ERG SPN HNMT EPHA2 COG6 CPNE4 ATF3 KRTAP5-2 KRT13 ABR ASB10 XIRP1 DMRT3 MAP3K14 PKLR ZNF692 GCK CELA1 PCP4L1 TMEM161B OR2G2 CNTFR AHCYL2 DCUN1D3 RAPGEFL1 CRHR2 FXN IL17RE PLXNB3 PIK3R3 OR13C9 CCDC113 SPRR2F ADAMTS19 LILRA2 PSTK ZNRF4 C18ORF12 PRMT8 KLK2 THPO CCL20 ATN1 KRT36 TBXAS1 SPAG6 OSM ADH1C NINJ2 CD93 DAPK2 ABCB5 KLK12 DSG1 POM121L2 OR1L3 RRP1B L3MBTL4 PSG1 MCTP2 LCE1E RAP2B FBXO44 REEP1 RECQL5 ICK SYN2 MST1R RGS5 DCST1 TMEM45B ALOXE3 ATP2C2 PCDHA5 CEP78 TRPC5 CPSF1 SLC30A8 GADD45A HIC1 KRTAP10-9 RASGRP1 PIK3CG SNX18 NDST3 SLC22A7 ADAM28 ZFC3H1 TRDMT1 KCNN1 SSH1 SPDEF TMC5 MICAL3 TTC21A PIWIL2 IER5 KCNJ3 SYT8 SLC36A2 NOS3 PCDHB9 MTA1 OTUD7B C15ORF56 SMG6 AKAP13 WFDC3 AUP1 PIP NUDCD3 PDZD11 PPP1R1C ELAVL1 RTKN OR1A2 CENPI MYO1G KRTAP5-5 TMEM126B ELMOD3 IGSF6 ALAS2 SOBP HSF5 ALDOB CES4A DPPA4 CIDEB SHKBP1 ATP6V0E2 CRISPLD2 MAPK4 HEXA SLC38A7 EDEM3 KRT40 BAIAP2 SOX2 TOB1 PDLIM5 ZFAT UGT3A2 IL2RG
6h_2Gy	30	TSPAN32 BLOC1S2 OR5AU1 FAS PAG1 RPS27A PHLDA1 SPATA19 PCNA EBF3 TRIAP1 MAN2C1 FRMD4A E2F7 HMGA2 VPS29 HAS3 CDCA3 WDR33

		Продолжение таблицы П2. HSPA14 CPSF6 DDC CLPX ZNF337 UBE3C SLC25A23 ACOT8 ERC1 WDR66 RPP38
12h_2Gy	42	ZNF202 MXRA8 UAP1L1 ZNF513 DVL2 EXOSC10 DIDO1 GGA1 FAM53C OXA1L PLEKHO2 ZFHX2 BCL6 CREBZF MFAP3L SNRNP48 CCDC130 ARFIP2 FBXL19 DNAJC6 CACNA1C COPS6 HDHD3 APH1A TOP2A DNAJC27 ST5 SERAC1 ENO3 PPP2R5D APH1B HEMK1 TFEB CPSF4 ZKSCAN3 ANKRD34A PSEN1 CTHRC1 IRF9 CDKAL1 LRRC14 HDLBP
24h_2Gy	247	TUBD1 TSPAN11 HIVEP1 ATRX TKT RCBTB1 PTEN SLTM ZEB1 CYTH1 CHD9 MRPL45 TRIM22 LYRM2 B4GALNT4 RAB8B ATG2B FAHD1 C18ORF21 LYRM1 EIF4G3 TMEM60 RNF141 NOL8 SDAD1 ZNF277 ZNF879 SAMD12 ZNF197 CES2 C7ORF69 ZNF397 PHF3 CDKL3 GEMIN8 ZNF345 THYN1 DUSP4 TBC1D5 ZNF154 SWAP70 ARNT HSPBAP1 WBP4 FNIP1 P4HA3 ACOX1 MTHFSD KIAA1324 QPRT PDZRN3 MMP15 ALAD KCNE3 USP32 ZNF382 LOC400464 OFD1 SIPA1L2 RCAN2 HOXB13 PAPPA RNF144A CCL7 VPS41 XPC ASAH1 SPG11 PBX1 MTSS1L EML5 PGM2L1 PLSCR4 CUL4B CTSS LYST AKTIP MEIS1 TRIM45 ZMYM5 REV3L NTN4 PECR HR GM2A NKIRAS1 LIN7A CASP1 ISCU RPS29 HCFC1R1 ADAM10 DRAM1 COL4A3BP ZFP90 FAM122A CENPBD1 TOX ARHGAP12 NFAT5 WDR60 NAPEPLD KIAA2026 CD72 ADSSL1 TP53BP1 MME SLC5A3 TCEAL4 ITPR2 PHYH BCL2L13 IL10RB BEX4 ALPK1 MTUS1 MR1 AUH FBXO25 SPATA7 GCLC FKTN CCDC93 VPS8 FOXK1 CD109 ZNF608 SLC38A6 CCDC102B ZNF610 FIG4 DPH5 DNAJC14 BBS2 MOXD1 TRPM7 EXOC4 SMAD2 IGF2BP2 PCDHB14 CD59 ATP6V1B2 PLK2 ACOT13 INPP4B PFKFB2 FAM198B GOLGB1 NPEPPS WDFY3 ZNF16 ZNF354B RCHY1 TCEAL7 RPGRIP1L ZC3H8 IQCF1 ZNF285 CLCN5 PUS3 RINL TSPAN10 BRI3 SERPINB1 ZNF211 TTC8 HTATIP2 D2HGDH OSBPL1A F2R ARMCX1 STRBP KIAA1549 SLC16A4 CDC42EP5 THNSL1 STK4 SPATA18 POLR1D GAL3ST4 RABEP1 ZNF616 FUCA1 RBMX2 MED28 FLRT2 FBXW7 RAB13 APOBEC3C MECOM ZFP64 LYNX1 MPDZ RBM41 REL EPS8L2 TSPAN6 CLIP3 RPS27L SSPN MORN4 MYRIP FAM118B RHOBTB3 PEX11A MRPS25 LYSMD1 PTGR2 ACP6 RSRC2 ZNF135 PPP1R3C SIK3 RPUSD4 RUFY3 SPHKAP TCEA3 CTSA HIST1H2BD ELP2 RPL31 KRT6B HIBADH ZNF30 ZNF37A MCF2L2 RSL1D1 SNAPC3 VPS13C FMNL2 TMTC1 RBP1 MYO1D CEP57 CYFIP2 ZNF33A CCDC112 BAX PTPN13 RMND1 DTNA ARHGAP22 RRAGB LYPLAL1 SAT1 PPIL6 LTA4H

Таблица П3. Сравнение дифференциально экспрессированных генов (пониженная регуляция) для доз 5 сГр и 2 Гр.

Пересечения	Всего	Гены
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	TXNRD1
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy	2	SH3KBP1 CDH11

Продолжение таблицы П3.

12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	3	DUSP2 NEDD9 TTC9
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 3h_2Gy 6h_2Gy	1	MSH6
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy	6	GART FAF2 TAF13 HSPH1 CAP2 CALD1
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_5cGy	1	HSPA5
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_5cGy	4	EPS8 PICALM ABCE1 SLC16A1
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	RGS16
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	3	NTM WNK4 EIF4G1
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	2	CYTH2 FOS
24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy	1	PPM1B
12h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	SNAP23
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 3h_2Gy	2	XRN2 C1ORF174
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy	4	USP10 LYN EIF2AK1 DEK
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_5cGy 3h_2Gy	2	ZFR SRSF5

Продолжение таблицы П3.		
12h_5cGy 24h_5cGy 3h_2Gy 6h_5cGy	3	HSPD1 GOLPH3 STIP1
12h_2Gy 24h_2Gy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	ZNF470
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	11	CDCA7 NFIC TBL1X S1PR1 CDT1 RBM22 ZNF367 GLI2 RGS12 DLX1 CDC25A
12h_2Gy 12h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	CHST11
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	1	BCOR
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy	35	CD44 FRMD3 AIDA TIMP3 TRA2B SON DYNC1H1 PDP1 CDC6 SMC1A CCND1 EREG GABPB1 DKC1 TES LRRFIP1 GREM2 GAPVD1 SLC31A1 ID4 YRDC GTPBP4 SYNCRIP MPP5 FGF5 KBTBD2 MCM6 NES SH3RF1 CLDN1 WNK1 JUN RHOBTB1 WASF2 TOP1
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_5cGy 6h_5cGy	2	NR1D2 PDE4DIP
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	DUSP1
3h_2Gy 6h_2Gy 6h_5cGy	2	DLG1 DDX3X
12h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy	1	MIS12
24h_5cGy 3h_2Gy 6h_2Gy	1	TOMM20
12h_2Gy 24h_2Gy 3h_2Gy	1	NCOA3
12h_2Gy 12h_5cGy 3h_2Gy	1	EIF2AK3
12h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy	1	IQGAP1
24h_2Gy 3h_2Gy 6h_5cGy	1	CHSY1
12h_5cGy 24h_2Gy 3h_2Gy	2	SEC23A ATF6
24h_2Gy 24h_5cGy 3h_2Gy	22	CDKL3 TPM3 POLE3 RNF145 JAG1 TMPO RCAN1 EIF2S1 CTNNB1 TXNIP PPP4R1 RNFT1 STIL ANKRD13C SRSF1 SCLT1 BZW2 RRM1 PDCD1LG2 IGFBP3 RBM25 ACTR2
12h_5cGy 3h_2Gy 6h_5cGy	2	PAPSS1 CDC16

Продолжение таблицы П3.		
12h_5cGy 24h_5cGy 3h_2Gy	10	GNL3 ZNF175 CCT2 COQ10B SLC30A7 CAPZA1 MAP3K2 CDC73 PITPNB STARD7
12h_2Gy 24h_2Gy 6h_2Gy	3	NRG3 CDK5R1 FKBP15
12h_2Gy 12h_5cGy 6h_2Gy	1	ARHGAP26
12h_5cGy 24h_2Gy 6h_2Gy	1	ARRB2
24h_2Gy 24h_5cGy 6h_2Gy	4	TUFT1 RFWD3 RASL11B GATA2
12h_5cGy 6h_2Gy 6h_5cGy	1	ACADSB
12h_2Gy 24h_2Gy 3h_5cGy	2	CCDC22 SPATA8
12h_2Gy 24h_2Gy 6h_5cGy	2	MAGI2 RAPGEF2
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_2Gy	3	KHDRBS3 SORD AMD1
12h_2Gy 24h_2Gy 24h_5cGy	65	MIER1 GINS3 IRX5 GINS1 ST3GAL1 AP3M2 ATXN7L3B FOXC1 GCLM ORC1 OXTR LSG1 FGF1 NMNAT2 PRRX1 MCM3 TIPIN FAM120A ANKRD11 TCF19 MCM10 SAFB2 DNAJC1 RRBP1 ADRA1D RFC4 INHBB TNFAIP3 ARGLU1 C3ORF52 KCTD20 FLT1 ATAD2 CLIC4 DNMT1 CBL GLIS3 RRM2 FEN1 CCNE2 CDC45 NCOA1 CHD4 MCM4 SSTR1 WDR76 VCL SERPINE1 MAP1B CLSPN DTL BICD2 WWTR1 RAD51 ETV5 ARPC5L EXO1 WDR37 GNB1 C6ORF106 BEND3 UHRF1 SRRM2 XYLT1 CNST
12h_2Gy 12h_5cGy 6h_5cGy	1	EGR1
12h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	EFR3A
12h_2Gy 12h_5cGy 24h_5cGy	3	DCBLD2 RGS4 NR3C1
24h_2Gy 3h_5cGy 6h_5cGy	1	C15ORF32
24h_2Gy 24h_5cGy 3h_5cGy	1	SETD7
24h_2Gy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	DNAJC9
12h_5cGy 24h_2Gy 24h_5cGy	12	TIA1 VEPH1 FGD4 WDR4 SLC7A2 CITED2 ANGPTL4 PHACTR2 PPIF CDCA2 TBRG1 NRG1

Продолжение таблицы П3.

12h_5cGy 24h_5cGy 6h_5cGy	1	BIRC3
3h_2Gy 6h_2Gy	1	NECAP1
12h_2Gy 3h_2Gy	3	FBXO11 USP7 SECISBP2
24h_2Gy 3h_2Gy	4	DCK NUP153 ACSL1 FKBP9
3h_2Gy 3h_5cGy	3	HSDL1 SBNO1 GIT2
3h_2Gy 6h_5cGy	8	SNIP1 DHX40 TAB2 DNAJB6 ZNF292 CLASP2 ABI1 MRPS27
12h_5cGy 3h_2Gy	12	APBB2 ATRX PAPOLA ELOVL5 FAM98A STXBP5 ATP6V1A TNFSF18 UGDH TCEA1 ARFGAP3 NARS
24h_5cGy 3h_2Gy	12	SSR3 NSUN2 TTC19 PPP3R1 DCUN1D4 STX12 ZNF544 SMARCA2 PHTF2 VPS45 UBXN2A B3GNT2
12h_2Gy 6h_2Gy	4	RBFOX3 KLF11 METTL2B UBTD2
24h_2Gy 6h_2Gy	3	ERCC3 NHSL1 HMGB1
6h_2Gy 6h_5cGy	5	SENP1 CTH BHLHE40 TCF7L2 ST6GAL1
12h_5cGy 6h_2Gy	1	METTL3
24h_5cGy 6h_2Gy	1	KDM4A
12h_2Gy 24h_2Gy	34	TLN1 SMARCC1 BAZ1B DEFB116 RAPH1 DLGAP4 ZNF275 SSRP1 BRD4 CHAF1A PSTK WWC1 MYH11 SPEN PDE4D PARP1 CLSTN1 LATS2 TPM4 RBM42 SMARCA4 CCDC80 TMEM43 C9ORF3 CMTM4 RASD1 FABP6 PDCD11 GJC1 STMN4 SFMBT1 FZD1 KLF10 TWIST1
12h_2Gy 3h_5cGy	1	LPAR4
12h_2Gy 6h_5cGy	2	PHEX FCRL1
12h_2Gy 12h_5cGy	15	HSPA2 EPRS GIGYF2 ZSWIM6 PRRC1 SEH1L C20ORF96 SFXN1 ADAMTS1 SRSF10 SLAIN2 CCDC91 ZNF431 USO1 ZNF398
12h_2Gy 24h_5cGy	6	ENAH ELK4 STIM2 BICC1 ZNFX1 NOL10
24h_2Gy 3h_5cGy	1	NLRP3
24h_2Gy 6h_5cGy	1	DEPDC1
12h_5cGy 24h_2Gy	1	ATP10D
24h_2Gy 24h_5cGy	131	SAMD4A E2F8 SLC7A6 CENPQ SFXN2 RFC3 BRCA1 PAPSS2 DLX2 RBM24 SRSF6 HBEGF PTK2 RPA2 DYNLT1 SKP2 ID1 FUS TSEN15 H3F3B FGFR3 NUP88 HP1BP3 MYO10 MASTL DHFR RBM6 LANCL2 SERPINB2 MTHFD2 CDK6 CSRP1 NEDD4L CENPL VEGFC SNRPD1 BARD1 MCFD2 FBXO5 CD83 FAM107B RIMKLB COQ3 PPIA TMEM106A CENPN FCRLB ZWINT ILF3 MALL ARRDC4 SRP19 IL6 UBE2T TMEM154 HMGA2 CREB5 ABCD3 BUB3 DIRAS3 UBASH3B SERPINB8 HNRNPD YWHAG TMEM68 HEATR5A RFC2 SRSF7 PRIM1 PLEK2 FOXC2 IPPK GINS4 SPTLC2 POLE2 DENND3 LRP8 GNPNAT1 ULBP2 TCERG1 SLC30A1 SHROOM3 SRPRB ETS1 PKMYT1 LRRC59 PHLDA2 ODC1 RAD51AP1 IL7R ESCO2 SRSF2 TMEM220 EWSR1 SPAG1 TM4SF1 GLIPR1 PURB NCALD FERMT1 SLC38A1 NOG SLC7A1 CXCL5 RBM8A S1PR5 MEI1 LCP1 CFLAR EBNA1BP2 FOXP1 TJP2 CCT5

		Продолжение таблицы П3. SHISA2 RAD21 ENC1 ORC6 GABBR2 SAE1 ARHGAP24 F3 ACTN1 RPS14 PLAUR CLCF1 MAT2A GINS2 PDLIM5 PVR PNP MEF2C
12h_5cGy 3h_5cGy	1	IL1RL2
12h_5cGy 6h_5cGy	2	FRYL THUMPD1
24h_5cGy 6h_5cGy	3	GMPPA RSRC2 INPP5A
12h_5cGy 24h_5cGy	8	ACBD3 ARL2BP TANK ELF1 VPS35 TDG ATP2B4 NDEL1
3h_2Gy	248	LTV1 ACTR3 IFT52 CNBP LMAN1 SETD2 SPTLC1 PARN MSRB3 DSP MAX AK3 ARL6IP1 SLC25A14 EXT2 PKD2 INTS6 ARHGEF12 SCOC BCLAF1 RAD23B DPP4 CAPZA2 MAPKAP1 CDKN1B YWHAQ ASCC1 YME1L1 RTN3 TWF1 RHEB KCTD18 PRPS2 LARS SPTBN1 DYNC1LI2 PTGES3 PRMT2 QKI ATF1 CCNG2 GNG12 SERPINB7 KIF2A RHOA CNOT6 DOCK11 TRIM37 FHL1 ABCC4 PPP1R12A C5ORF15 KLF6 YWHAZ PFN2 ZC3HAV1 IFI16 PRPF4B RDX AP4B1 MOSPD1 SVIL TTC3 FRMD6 ITGB1 ITGAV MAP1LC3B NTN4 TM9SF4 RAB5A ROBO1 ADAM9 WNT5A PLRG1 ADAM10 MAP4K3 NAP1L4 SETD6 OXR1 UACA ABI3BP PRKDC GLOD4 SIN3A NUB1 AGTR1 CALCOCO2 MAT2B CASP7 CD46 RCN1 SMAD4 RIOK3 MME PPT1 PLS3 PLOD2 MFSD1 ZFAND6 UBAP1 DROSHA PRNP CLTC STAT1 SETD3 EEF1A1 METAP1 UBE4A NAP1L1 GLCCI1 EIF4B NCKAP1 PTPRK CDC27 DCTN4 OGT GLO1 NUCKS1 ZNF155 RB1CC1 IKBIP RPE TNC WDR11 KRIT1 RORA ATP6V1B2 CDC14B NSF CCDC117 ARHGAP18 PGRMC1 ACAD9 MAPK6 LGMN TBCE SDCBP G3BP2 DKK3 SENP2 RAP1B NUPL2 GNAI1 GSPT2 CYB5B HSPA9 CAPN2 UBAC2 TRAPPC8 DCUN1D1 REEP5 RPL15 CALU XPO1 GNAQ CKAP2 TTC39B C1ORF43 ATF2 AP3M1 COG5 NCBP2 PDE5A TOP2A HDAC8 ACVR1 RFC1 USP34 CORIN PPP1CB FAM172A GIN1 UTP6 WDR44 VAMP3 EXTL2 HIF1A CLPX STAU1 GOLIM4 DST WTAP ETAA1 LRP12 TMX1 PRMT3 MRS2 ACTB UBA2 NR2C1 VCAN GLS TM9SF3 PPP6R3 IFNGR1 PDIA6 MAP3K7 LAMP2 CAT CRK CPOX CNOT8 JAK1 NRCAM CANX NPTN AGPAT5 KLHL5 HDAC1 NNT FNDC3B CKAP5 CD164 SLFN5 ZNF791 WIPF1 ZMPSTE24 ADSS DNM1L SPARC HIBADH RNF11 EIF4G2 SUCLG2 CDC5L GYG1 MKRN1 TMEM184C PSEN1 OLA1 TRPS1 BCL10 CYBRD1 PNN PHLDB2 LACTB WAC HNRNPA1 NCOA4 USP8 MBOAT2 ARL8B APP SGPP1 RPS6KB1 RAP1GDS1 ZNHIT6 SLC39A6
6h_2Gy	32	FIBIN MTHFD2L CHRNA10 COX15 ING5 FANCL HINT3 NUDT16P1 SUN1 DLG3 SORBS2 MAPK14 SLC38A2 PTER HTR5A RAB36 SPCS1 RERE CACNA2D3 GPR161 MTMR4 SKI ARHGAP29 NAV1 MOCOS ABCB4 FAM50B SYBU PRPSAP2 FANCE GPT2 ERRFI1
12h_2Gy	65	UGCG SEC23B CCDC12 ANXA3 LRRC8C SEL1L3 ZNF274 TAF1B ALG2 BDNF DNAH11 LTBP1 ARID5B UNG CDCA7L LDLR GPATCH8 TMEM209 GAB4 ANKRD17 PLEKHA1 PER2 ZNF480 KPNA1 ATF7IP SEMA6A GNLY ADARB1 C1ORF21 TRAF6 SCFD2 CACNB4 BMPR2 TFB2M PSMB11 NHLRC2 NLN CPNE3 DEFB126 EFNB2 SGMS2 SCAMP1 AP3D1 ROBO3 ZNF273 CD48 PPRC1 DMAP1 SLFN11 AKAP13 BRD2 UST SYNPO THSD4 FOXO3 ADNP2 PARD3 CAST OR2L3 DTNA GCNT1 SFRP1 LANCL1 RHBDD1 TRMU
24h_2Gy	235	ESPL1 KANK1 ARHGAP11A TPX2 DEPDC1B TMX4 NUP214 KCTD15 SRPK1 NXPH3 RELT LMNB2 PALLD TEK LYPLA1 HES1 ANLN BIRC5 SCUBE3

		Продолжение таблицы П3. EXOSC2 EZH2 VAMP1 GRB2 POLR1E CDK1 ATOH8 KIAA0100 CHEK1 NEIL3 HNRNPR KIF11 PTP4A2 RACGAP1 CDCA4 ASF1B E2F1 CDC25C PSMC3IP EPX KIFC1 DIDO1 DCLRE1B DBF4 CENPO AURKA KCTD5 WIPF3 MAD2L1 C4ORF46 PRIM2 CCDC81 PAQR4 POLA1 AURKB SLBP NR2C2AP NUAK1 USP13 OAS3 KCTD10 FOXL1 HIST1H2BN FANCA PDSS1 HNRNPA0 TCP1 NCAPD3 BLM FN3KRP RIF1 KIF4A CALR NCAPG2 LMAN2L PDPK1 STX11 RANBP1 NDUFA4 KIF2C PKP4 SIPA1L1 CDC42 SURF4 PKNOX1 CENPA TYMS SEL1L2 DNA2 MELK CCNJL NDC80 ACAN OSBPL6 PLK4 H2AFX OIP5 CCNA2 HAUS8 GTSE1 LEMD3 VCP PBK CD86 EXOSC8 ADPRHL1 PSRC1 CHD1L CBLN2 MAPK1IP1L SKA1 SHMT1 TRIP13 CA12 CTGF HMGB2 CDCA5 STMN1 CKS2 ING2 ACER3 TDP1 ITGB3BP KIF23 PRPF40A SKA3 NCAPH PTTG1IP SLC11A2 SHCBP1 COTL1 LMNB1 SPAG5 CDCA3 TLE3 TACC3 SLC17A6 MB MND1 CDK13 MCM7 PRC1 RHOB CEP55 AMMECR1L C3ORF70 DIAPH1 AKAP9 EHD4 HNRNPAB ASB6 ICAM1 THBS1 HELLS FANCI RAD54L PCDH10 UXS1 ZCCHC17 NHLRC4 MOBP SPC25 MXD3 MCM2 KCMF1 DR1 HEY1 CDK2 HJURP E2F2 POLE THRA SMTN NIPA1 UBE2Z IYD RNASEH2A CKAP2L LMO3 NVL MKI67 LRRC3 FAM83D RPL35A INSR EXOG BAG5 CDC23 PDCD1 CHAF1B NUDCD3 HIPK2 CDKN2C TMEM50A CENPI CCNF TSR1 SPRY4 GMNN ERCC6L SHISA7 CDC42SE2 NUP205 ZNF789 TMEM132B PIGW HOXC8 PPP1R14C FOXD1 DSN1 PMS1 C1ORF112 KIF22 POLD3 SNRNP40 NUDT15 KHDRBS1 PYCR2 DOCK7 CASP2 ARMCX4 TULP3 HIST1H4C TTK NCAPG SMAP2 RFC5 POLA2 ALDH9A1 FMN2 CHST3 SPC24 NUSAP1 CKAP4 DARS2 CDCA8
3h_5cGy	26	ERGIC1 BBS12 THOC2 ZNF711 NF1 DIRAS2 PROS1 RNPC3 ZDBF2 PLIN1 HSD3B7 ACE MCF2L OR5P3 NMUR1 PPY DOCK9 PADI2 ZNF782 CEP152 HIST1H2BD TSSK6 PLEKHM2 KIF21B ATPAF2 C5ORF34
6h_5cGy	29	IGF1 ALPK3 TFCP2L1 SLC12A6 GALNT5 OGFOD2 STRADA IQSEC2 SGK1 HPS1 CD7 RASSF10 ZFHX2 ARNTL OR10C1 EHBP1 C9ORF64 ALDH1L1 XPNPEP1 EPB41L2 SEC24C RBM5 ZFHX3 PAX3 PLVAP SCMH1 ZNF780A CCDC24 ACER1
12h_5cGy	25	ATXN7L1 VCPIP1 TMEM39A BTN3A1 UBXN4 SH2D2A SLC39A9 FOXO1 EPHB1 ETV3 SPTY2D1 RIPK1 STARD4 DNAJB9 SPRY3 TAF3 ZFAND5 NOLC1 PIK3R1 RAB27A RLIM ETNK1 ERGIC2 AR RPL14
24h_5cGy	107	NUFIP2 ID3 PEBP4 PAIP1 ING3 GEN1 ABL2 LARP7 SMAD3 ATF3 ZC3H7A PPIL1 STK17A ITGB1BP2 ALDH18A1 UFM1 SRI WDR43 RAD18 TRIP12 ATF7 NCEH1 ULBP3 GNB4 PTPN2 ZNF410 RPL4 ZBTB43 KLHL9 EMP1 ENTPD7 CDC42SE1 SEC63 TMEM47 XRCC4 DNAJB4 SPAG9 CORO1C MBD4 MPZL1 PTGS2 NT5E PGGT1B DCAF7 KCNH6 MED6 SGMS1 MAS1L UBE2L3 CPPED1 SRSF3 TSPAN31 AADAT CCND3 PSME4 RPP30 MYOCD IDH3A UBE2G2 DTD1 PGM2 MYBL1 DIAPH3 ITGB1BP1 PLXNA2 KRT72 CSTF2 FPGS ACOT11 TMX3 MBNL1 NUP160 HSPA14 MPHOSPH6 ABHD3 ZDHHC23 MICAL3 LRP2 PI4K2B PWP1 SLC35D1 NFATC2IP HAT1 SMG7 MLEC PDK1 EHD1 AMOTL1 KIRREL3 GPD2 IMPA1 HADHA CAMKK2 SHC4 ELL2 YKT6 ZNF326 BECN1 NUP43 IL18R1 SERBP1 UBE2D2 SCG5 GJA5 HIST2H2BE FANCD2 STEAP1

Таблица П4. Сравнение дифференциально экспрессированных генов (повышенная регуляция) для доз 5 сГр и 2 Гр в сравнении с датасетами EMTAB2086_70_vs_30, EMTAB2086_80_vs_30, GSE55118_middle_vs_young, GSE55118_old_vs_young.

Пересечения	Всего	Гены
24h_2Gy 24h_5cGy EMTAB2086_70_vs_30 EMTAB2086_80_vs_30	24	GDF15 FRY SVIL SGK1 KIT OSBPL3 EDA2R KCNH1 SERTAD4 CLN8 FBN2 GDF6 EGR2 SHC3 FBXL2 OPTN SP100 IGDCC4 PAMR1 CMBL CNIH3 AHNAK2 MAMDC2 ANXA4
EMTAB2086_70_vs_30 EMTAB2086_80_vs_30 GSE55118_middle_vs_young GSE55118_old_vs_young	1	CLDN16
24h_2Gy 24h_5cGy EMTAB2086_70_vs_30	3	CTSK CHAC1 SESN2
24h_2Gy 24h_5cGy EMTAB2086_80_vs_30	29	FIBIN ORAI3 ZNF425 ERMAP RRAGC SLC22A15 HDAC11 CELF2 POLH JUP SATB1 KIF26B DIRC2 SCIN DCLK1 SYPL2 RCOR3 ST3GAL6 CAMLG OPRL1 TMEM187 CACNA2D3 PYGL IGF1R MSI2 ANK1 PPFIA1 KLHL24 SLC2A11
24h_2Gy 24h_5cGy GSE55118_middle_vs_young	1	PER3
24h_2Gy 24h_5cGy GSE55118_old_vs_young	3	IFI16 RASSF4 KLF15
24h_2Gy EMTAB2086_70_vs_30 EMTAB2086_80_vs_30	32	BTG2 KIAA1324 QPRT ASAH1 NFAT5 CD109 PCDHB14 GOLGB1 MDM2 SESN1 SPATA18 EPS8L2 RPS27L CDKN1A CYFIP2 SAT1 HIVEP1 PHLDA3 TRIM22 SAMD12 TMEM217 DRAM1 ITPR2 MR1 ZMAT3 BBS2 TP53INP1 BCL2L1 TNFRSF10B PPP1R3C PTPN13 TNFRSF10D
24h_2Gy GSE55118_middle_vs_young GSE55118_old_vs_young	1	VWA2
24h_5cGy EMTAB2086_70	6	LAMA1 SLC31A2 IGF2R YPEL2 LPCAT2 IDUA

		Продолжение таблицы П4.
_vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30		
EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_middle_vs_young	4	ANO10 PCDHB13 RASA2 LYSMD3
EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_old_vs_young	8	GCNT2 SLC35F5 RHOQ CDH13 SLC2A13 HEXB C7 DDX58
EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_middle_vs_young GSE55118_old_vs_young	1	PPP6R2
24h_2Gy 24h_5cGy	224	CEP250 LCORL C1RL WISP2 SLC12A8 ZFYVE1 SERPINF1 VWA5A C12ORF65 ROR2 ZNF232 DNM1 KBTBD3 MRGPRF ZNF552 ZNF467 SLC38A4 DYNC1H1 PTGES NACAD PLD1 AKNA HPS4 ZNF227 NEU1 UBE2L6 VAMP4 ACSF2 HS1BP3 TMEM140 NIPAL4 SFRP2 PPARGC1A VIT BOD1 TIGD2 TRIL PELI3 SENP8 ANKDD1A AQP11 SAT2 RUNX1T1 SULF2 DENND2A HMBOX1 SNCA ZNF514 ZNF480 SETBP1 RUFY1 C11ORF71 C12ORF76 ZNF74 PIAS1 CRTAP NR2F2 MMP11 MCCC1 DBP PKIG LRRC32 FLCN CTNS KIAA0513 FAM117A TRIM4 SH3BP5 ARMC9 ITPKB RPL28 WNT11 ZNF589 PID1 CRIPAK ZNF423 MAP3K12 SYT11 ZNF585A FAM76A INHBE IRF2 FBXL7 TFPI DDX17 TP53TG1 KANK2 TGFBR3 C14ORF93 MBP NDRG4 S100PBP MASP1 WARS2 WIPF1 TESK2 CPT1C POLR3GL N4BP2L1 FAM20C PEAR1 TMEM26 EPHB4 KCNS3 C2ORF49 PPM1D MAST3 LETMD1 AFF3 ATXN7L1 RFX5 POLG2 FAM20A IRF2BP2 SOX4 GPNMB KIAA1522 ZSCAN30 NFATC4 MTHFR DPP4 THOC2 GNPDA1 ABCA1 CLK2 BDKRB2 CHD3 PRMT2 ZRSR2 ARL4C PPARG EFNB3 LITAF ZCCHC24 PIM1 TM2D3 ASAP3 KIAA1217 PPP1R3B ARHGEF3 NYNRIN MAN1C1 DISP1 ZCCHC7 ITPR1 SALL2 EBF1 LRRC15 CLCN7 SPECC1 ALDH7A1 E2F5 PFKM DNAJC18 GLI3 GRAMD4 FANCF DHRS3 ATF4 ADA PBX3 RNF213 VDR ZNF333 EPB41 RARA DDIT4 EIF1B ZNF512 PRSS12 GRASP DMKN SDCBP BPTF SLC2A12 NFIX TPP1 ZNF451 DDIT3 PTGR1 KIAA1671 RPAIN LDB2 RAB3IL1 ZFYVE26 METTL7A OLFML2B CADM1 CDKN1C BCDIN3D RNF214 APCDD1 KIF13B HEXIM2 STAT2 NFX1 MEST ANGPTL2 KCTD7 ULK2 PLEKHA4 NOV NNT TTC17 ZBTB44 MORC2 NUMA1 AKR1C3 CLUAP1 PTGS1 MAP4K4 DOCK3 TMEM119 DCP1B ZNF557 ABHD6 APOL3 FAM180A DAPK1 SMARCAL1 CCDC115 PHF21A RNF169 WDSUB1
24h_2Gy EMTAB2086_70 _vs_30	2	SLC16A4 BAX
24h_2Gy EMTAB2086_80 _vs_30	29	CES2 CDKL3 KRT17 PGM2L1 PLSCR4 VWCE ISCU PARD6G WSB1 SLC5A3 IL10RB POU2F2 PFKFB2 FUCA1 SNAPC3 MYO1D TSPAN11 RNF141 ACOX1 PAPPA EPB41L1 COL4A3BP WDR60 TCEAL4 ZNF610 CD59 FAM198B CLCN5 LYNX1

Продолжение таблицы П4.		
24h_2Gy GSE55118_middle_vs_young	2	TRPM7 PLK2
24h_2Gy GSE55118_old_vs_young	6	PBX1 FKTN D2HGDH CCL7 CTSS RABEP1
24h_5cGy EMTAB2086_70_vs_30	1	MMP2
24h_5cGy EMTAB2086_80_vs_30	10	HSD17B2 SLC6A6 ZBTB4 F2RL2 GDE1 CPE PTPRK MXI1 MAPK3 HNF4A
24h_5cGy GSE55118_old_vs_young	2	TACC2 KIAA1958
EMTAB2086_70_vs_30 EMTAB2086_80_vs_30	513	PCDHB15 SAMD4A APBB2 XDH EDN1 RDH10 TPRG1L GYS1 CACNA2D1 SLC33A1 MSRB3 KCNK6 BANK1 B4GALNT1 BLOC1S2 SLC12A4 LUZP1 ACTR10 C5AR1 VGLL3 PDCD4 RHOC CLN5 TSPAN13 SCUBE3 FOXE1 DHRS7 UFM1 FAM174A ETNK2 RIN2 KLHL36 OPHN1 PPM1K TMEM156 SEC14L1 TMEM117 ADAM19 CHST11 NLRP10 TMEM200A LTBP1 UNC13B HINT3 MFAP5 CST3 PSG3 C4ORF3 ITPRIPL2 TPBG OSR2 C5ORF46 NAALADL2 ZNF432 NADSYN1 TIAM1 C5ORF15 ATP10A ZNF583 ELFN1 COQ10B NMNAT2 SH3PXD2A IDS ASAP2 MOGS FMN1 NCOA3 NTM TTC3 NEDD4L DNAJB4 THY1 NAPB NFKBIZ ZNF264 CREB3 RAB5A PLA2G4C MCFD2 WNT5A SH3BGRL2 TCTA PPFIBP1 NEGR1 TEX2 MICA RNF150 EPHX4 LCE2B GK5 CCND1 TRPC1 LOC389834 C3ORF35 FMOD MXRA5 TRPC4 ZFHX2 ARHGAP26 ARSK CDKN2B DRP2 VAT1 MAST4 WDR26 MCTP2 PTGIR ULBP1 DNASE1L1 SLC9A3R2 OTUB2 RSPH3 PLOD2 TSPAN14 C1ORF54 SFXN3 LRRFIP1 COL8A1 POLD4 WNT16 C3ORF52 GALNT10 FHOD3 SMURF2 PRDM1 ADAMTS12 SLC22A5 C4ORF36 GPR155 STK10 NPAS2 LMO7 BPGM GFPT1 OGFRL1 CITED2 FNDC4 GRAMD1B SERPINB8 FLT1 EBI3 FCGRT HEATR5A MRAS SLC2A14 GATA3 DUSP3 KCTD4 ANGPTL4 SH3TC2 AGRN PLCB4 ATP9A GADD45A ANKH ATP13A2 PLAT PPP2R5B BTN2A2 GBE1 DOK1 TMEM136 SRPX2 PURA C14ORF28 TRAK2 NEO1 CFL2 NFE2L3 BLCAP SLC39A13 HM13 KRTAP4-4 KCTD11 STARD4 CPEB4 ANKRD44 SEMA6D PMAIP1 SLC25A20 NDUFA1 NTF3 MFAP2 BHLHE40 SERPINA9 ARHGAP5 PCDHB9 TNIP1 HIST1H2BK TFAP2A CAMTA2 DGKA CXCL10 P4HA1 MAN1B1 ATP6AP2 LOXL4 LOX LAMB2 ATP6V0A1 RAB11FIP5 KCNN2 IL32 LAMP2 ADAMTSL5 TRIML2 LAMC2 KIRREL3 ABCA2 CFLAR TRAK1 SLC46A3 DMD MXD1 PLA2G16 PGM5 TFEB LCE2C SH3RF1 FNDC3B BLZF1 CLDN1 REN PDCD1LG2 CALD1 AIG1 SHOX2 CTSO ACTBL2 COL11A1 CLTB NCOA7 MLLT11 ERRFI1 CCIN GAS6 CYBRD1 HSD17B14 CENPT DYNLT3 CHPF ZBTB46 CALCOCO1 CYR61 MAFF EDEM3 TBC1D8B IFI27L2 NDEL1 SLC17A5 ITGB5 REEP2 PDLIM5 GPR108 HECW1 MFSD3 PLXNA3 BAIAP2L1 NPDC1 CASS4 COBLL1 VAMP2 ANKRA2 MACF1 CYBA NBEAL1 FAM151B SLC22A4 DSP SERINC3 PRDX6 ABL2 ASCC3 GPR137B TGM2 ACYP2 SLC22A18 TIMP3 EPHA2 COG6 CYP2U1 CSGALNACT2 PLK3 CMIP LNPEP UCHL1 RFTN1 RAPH1 PCYT1A MYO6 MINK1 ATP11A RBM24 FAS BTRC MGAT5 PCDHB8 LRRC17 NCF2 SH3GLB1 COPZ2 PAG1 PIK3C3 STIM1 GALNT5 RAI14 FGD4 IGFBP7 SPTAN1 SGIP1 SCD5 DMPK PCDHB11 EVI5 LPXN LIPH ECM1 HDAC9 ZDHHC24 PTGFR ABCB1 FAR2 CCDC81 SERINC2 HECW2 ANKRD42 SYNGR2 FABP3

		Продолжение таблицы П4.
		TRPV2 SLC9A7 CDK6 GSN FRMD6 TCP11L1 ITGAV SAMD9L FER1L4 SGTB SHANK1 MPZL1 TMEM9B NOX4 TPM1 KRTAP4-2 SLC30A4 PLEKHA1 OSTM1 NDFIP2 MAN2A1 TNFSF18 CD9 PRDX5 SRGN ERLEC1 CD46 USP53 TMEM106A SLC35B3 FCHSD2 RIOK3 PSG1 QPCT FBN1 NIPAL2 INHBB KDELR3 MFSD1 LRP10 CPPED1 GDPD1 OR5B21 CCL2 PRNP LAMC1 IL6 CTGF ANGPT1 SEMA6A LIMK2 TMEM154 HHAT PSTPIP2 TRPM4 TNFAIP1 DNAJC6 STX3 L1CAM ARHGAP31 HLA-F RGS5 TBC1D4 P4HA2 EDIL3 CNNM1 DOCK9 OSTC TUBB2A MGLL FAP CDYL2 TNFSF4 TG DUSP6 SERPINE2 IFI6 SLC36A1 HIVEP2 CPEB2 CHRNA1 ICAM4 TAF13 INA DGKI RASGRP1 CADM3 PSG2 SLC7A5 UBL3 PEA15 STXBP6 EXPH5 HCN2 CYB5R1 STX12 SLC1A1 PLA2G15 WIPI1 CMPK1 H6PD FADS3 RNF144B ETHE1 PCDHB10 IFI30 HK2 CD63 SIL1 RECK NAV1 SLC20A2 CHIC2 SHROOM3 NEXN PCDHB16 DNAJB9 CTBS TMEM131 SGMS2 NIPAL3 SLC41A2 FAM43A GSTM3 ERP44 RIT1 RHBDF2 LRRN3 GCNT4 TSPAN9 RGS9 SERPINE1 EXTL1 BACH1 PPFIBP2 CAP2 PORCN TGFBR2 WDR41 MTSS1 NEDD9 ETV5 SETD7 GSTO1 PITPNM3 NRBP2 DAP CCND2 FSTL3 TMEM150A RRM2B SCN8A KCTD16 FZD6 TBC1D2 ENC1 ZNF654 SEMA5A ARRDC1 CERCAM GIPC1 DDR2 SPARC ANKRD1 F3 CTSZ WNT5B ZNFX1 LCE2A TM6SF2 NOTCH3 NRG1 LGR4 INPP5A ICAM5 STX4 SEMA3C TOB1 WDR66 ZNF622 WDR63 SPOCK1 PIK3IP1 SLC39A6
EMTAB2086_70_vs_30 GSE55118_middle_vs_young	3	FGF1 NETO1 ZDHHC5
EMTAB2086_70_vs_30 GSE55118_old_vs_young	1	TRAF1
EMTAB2086_80_vs_30 GSE55118_middle_vs_young	18	SLCO2A1 MAPK12 AMPD3 SLC2A1 FAM3C TCF23 AGXT FRMD3 SCOC RGL3 UBE2B LCE3B PCDH1 KIF1C MRS2 ACER2 ALS2CL SLC35A3
EMTAB2086_80_vs_30 GSE55118_old_vs_young	9	FIBCD1 MAP3K13 UNC13A KISS1 DLL1 TOR1B JKAMP PGC RETSAT
GSE55118_middle_vs_young GSE55118_old_vs_young	59	PAX7 MTMR14 GBGT1 CD300A IL18BP SNRPD2P2 PRSS22 HCRTR1 AQP8 HERC3 FOLR2 WDR38 SLC23A3 SLC14A2 WNT1 TFAM MYEOV ABHD13 TTLL9 PTPN6 ZNF560 ANKRD33 LRRC27 ATP2B3 SLC30A3 GNG8 MUSK H1FOO OR7C2 PKLR PACRGL ZIC4 SLC32A1 EFNA1 CHST4 FAM83E WDFY4 LCNL1 ZSCAN1 ANP32C KIAA0040 APIP CRYGD LONRF3 KRTAP3-1 ZC3H12D SLC6A5 RETN ST8SIA3 VPREB3 DBF4B OTUD6A JAK3 C8ORF58 WNT4 MFNG LCE3C FAM81A GABRA3
24h_2Gy	229	TUBD1 TKT ZEB1 CYTH1 CHD9 MRPL45 BBC3 ATG2B FAHD1 EIF4G3 NOL8 SDAD1 DDB2 ZNF345 DUSP4 WBP4 P4HA3 PDZRN3 MMP15 ALAD KCNE3 USP32 ZNF549 OFD1 ZNF79 ARPC3 XPC SPG11 MTSS1L EML5 CUL4B MEIS1 TRIM45 ZNF419 COQ10A ZMYM5 NTN4 PECR NKIRAS1 CASP1 SPP1 RPS29 HCFC1R1 ZFP90 FAM122A TOX ARHGAP12 GIGYF2 C21ORF91 CD72 MME PHYH ALPK1 AUH FBXO25 GCLC ZNF608 SLC38A6 CCDC102B FIG4 IFFO1 EXOC4 SMAD2 IGF2BP2 ACOT13 WDFY3 ZNF16 RCHY1 TCEAL7 RPGRIP1L ZC3H8 ZNF285 PUS3 RINL ZSCAN21 TTC8 ZNF211 OSBPL1A F2R ARMCX1

		Продолжение таблицы П4. CDC42EP5 GAL3ST4 ZNF616 RBMX2 PLXNB2 FBXW7 RUNX2 MECOM RBM41 CLIP3 SSPN FAM118B MAF MRPS25 PTGR2 ACP6 ZNF135 RUFY3 SPHKAP CTSA HIST1H2BD ELP2 RPL31 HIBADH RSL1D1 TMTC1 KDSR RMND1 DTNA RRAGB CH25H LYPLAL1 LTA4H ATRX RCBTB1 PTEN SLTM LYRM2 B4GALNT4 RAB8B C18ORF21 LYRM1 TMEM60 CRYM ZNF277 ZNF879 ZNF197 FBXO22 C7ORF69 ZNF397 PHF3 GEMIN8 THYN1 TBC1D5 EVC2 ZNF154 SWAP70 ARNT HSPBAP1 FNIP1 MTHFSD SIRT4 ZNF382 LOC400464 SIPA1L2 RCAN2 HOXB13 RNF144A VPS41 LYST AKTIP STOM REV3L RAD52 HR GM2A LIN7A ADAM10 CENPBD1 NAPEPLD KIAA2026 ADSSL1 TP53BP1 BCL2L13 BEX4 MTUS1 SLC7A8 SPATA7 CAMK2G CCDC93 VPS8 FOXK1 DPH5 DNAJC14 OGT MOXD1 B3GALT4 ATP6V1B2 INPP4B NPEPPS ZNF354B IQCF1 TSPAN10 BRI3 SERPINB1 CCNG1 HTATIP2 STRBP KIAA1549 THNSL1 STK4 WBP2 POLR1D GDF5 MED28 FLRT2 TMEM144 RAB13 APOBEC3C ZFP64 MPDZ REL TSPAN6 TOMM40L MORN4 MYRIP RHOBTB3 PEX11A LYSMD1 RSRC2 FDXR MALAT1 SIK3 RPUSD4 TCEA3 KRT6B ZNF30 ZNF37A MCF2L2 VPS13C FMNL2 RBP1 CEP57 ZNF33A CCDC112 ARHGAP22 GGA2 ATG14 PPIL6
24h_5cGy	120	ZNF785 NHLRC3 PELI2 TNS3 BBS12 GFPT2 MAOA TNNT3 IP6K1 NTHL1 HBZ IFT140 CARD8 SLC9A9 CNOT1 SPTBN1 MRPL34 PAQR8 GLIS2 POU6F1 NEK6 RALGPS1 MYF5 CREBBP RAB9B TSHZ1 CA9 GNS SECTM1 TRIM56 ZNF740 DPY19L3 SIK2 PITPNM2 MAVS RERE SPATA24 ZNF775 VAC14 KDM5B RBM4B HNRNPD MKNK2 CRABP2 FMO3 CARD10 ZFP36L1 WNT2 BRD7 ATF2 PRDM10 ZNF169 BFSP1 DCAF10 SPSB1 MGAT3 WDR48 PDGFRA ZNF671 ZNF2 PRELP PMP22 CDA CD3E ART5 KHNYN USP29 USP30 AMBP NEURL2 FZD2 NUDT7 KLHDC7B TSC2 ZNF318 LEF1 ZNF236 SOX30 PDK2 MEGF8 BMP4 TAF4 TRERF1 HEG1 CCDC8 ZNF618 ROCK1 WDR81 GLIS1 SAP30L NBEAL2 OR4F15 TAF1A TGFB3 AKAP1 FOXRED2 ANAPC16 CELSR1 ABCB4 NIT1 RTP4 ST14 CTDSPL XKR6 ANGEL2 ZMIZ1 ZNF488 ZC3H10 STAC ZNF77 LRP4 GPRC5B SYNPO SNED1 GEM ZNF341 C2ORF68 PARD3 GAB1 APPL1
EMTAB2086_70_vs_30	117	KCNG1 SLFN12 TNFRSF9 FRS2 CD82 PCBP4 NFKB2 CDC42EP3 GRIK2 KIAA0355 TM6SF1 KLHL7 C16ORF72 ZNF805 LRRC2 IL1A DUSP14 TAC3 B2M SQLE SGCZ TMEM132A ARHGAP10 TNFAIP3 NEK10 ZSWIM4 PARP8 ERAP2 TUBB2B BBS9 IRAK2 FNIP2 OR2L2 PDLIM4 TMEM167A HCFC2 CHST7 RASGRP3 GGCX PHLDA2 TOX2 GRINA RELB PREPL KLHL5 NFKB1 NKX2-6 GYG1 BAALC STX6 LY96 GLT6D1 TSPYL6 IFIT3 DUSP8 TMEM130 ADD3 VEPH1 PKD2 FBLIM1 SLC16A12 MFAP3 FOXC1 TLR6 CFH HSPA4L TRIM55 SATB2 EPRS GPR176 EBF3 SPRED1 SIPA1L3 ZC3HAV1L PTX3 GOPC JAZF1 PLEKHF2 CLDN12 CNTN3 BTBD3 SYT1 PCDHB7 IKBIP LHCGR ZNF699 ZFC3H1 TDG ZNF841 TRAF4 COG5 MICAL2 EFNB2 NLGN1 SLC9A1 DNAJC28 RANBP17 MMP17 LOXL3 CYLD C2CD2 SSTR1 GBP3 NFKBIE COL6A1 CTAGE1 CTHRC1 PDHB IRAK4 PGM3 RPS6KC1 ANO6 RFTN2 GPC1 GARS CNST BIRC3
EMTAB2086_80_vs_30	1012	ABCA3 PLCE1 KCNJ2 ZHX3 CXCR4 GLTP CUBN ADAM12 NT5DC1 C9ORF131 ALDOAP2 UQCR11 PPP1R14A STYK1 NKX2-5 RTN1 PEBP4 REEP6 SLC26A1 COL4A5 AES RNF14 PDE1C CAPNS2 NOSTRIN MTNR1B PDLIM2 CLCNKA CAPS RAB40B EVC LEP CXADR TSC22D1 DKK2 ITGA3 FAM129C LIMS2 ITM2B PAPSS2 HCST A2M PHLDB3 RWDD2A VKORC1 TERF2IP CCDC153 RAB33B SEL1L3 GDPD5 SLC1A7 WDR45 GHR DYSF FOXJ1 STK17A PCDHA13 MYL12A GATA6 C3 GRB2 EPB42 F2RL1 ATAD1 SHBG CDIPT GCC2 PLXNA1 SORT1 FNDC1 KLHL30 TPCN1 TNFRSF10A CDH10 KL MAFK TRAM1 MPP4 TBC1D17 RAB3A ADAM32 TMEM59 RGS4 ADAM23

		Продолжение таблицы П4. POMT1 PIK3AP1 SNX25 RHBDF1 OXTR PRDX4 ABHD12 CLSTN2 AHCYL2 KDM4B NDUFC1 PLA2R1 PICALM PRRG1 TDRKH PBLD UBE2W PERP KRT15 HEATR5B RSU1 GPR132 PLXNB3 SORCS2 ACVR2A ANKRD52 GAA SYTL5 GALR2 ATP7B FAM71F1 BMP6 CLTCL1 CAPN6 NUAK1 RRAD LCN1 CD151 HOXB5 UBTD1 TTC13 CCDC113 IER3 FHDC1 SLC4A5 NOXA1 SVEP1 DCTN1 CYHR1 SAMD10 DIXDC1 SLA JPH2 SLC2A10 HAGH EGF YPEL5 PAWR LCE2D KCNH4 TNFAIP8L3 MYOZ2 XRCC4 HTR1E RCAN1 OVCH2 SLC38A9 KRT8 TYRP1 DPP7 TARSL2 ANTXR1 TNNT2 WIPI2 KIAA0319L C20ORF194 PTGS2 OSM C1QTNF7 CCDC90B ADAMTSL4 TAOK2 DAGLB SSC5D MAP4K3 EME2 SNTA1 BTBD9 UTS2R NCKAP5L FAM129B SLC16A2 USP35 NEURL3 RRAS TAL2 BMP2 MGP DNAJC1 CCNDBP1 NUDT22 CMKLR1 TMOD2 GPR157 IRS2 RHOV ZBTB47 PTP4A3 GPR1 MUC20 CALCOCO2 ADCK2 BSDC1 TMC6 RIMS1 XYLT2 HIPK3 TPD52L1 DHCR7 PROS1 PDZD7 MAP6 CRAT LIMS1 MFAP3L AREG OR1L8 DHRS7B CHST2 ATP6V1E1 ARSA DAG1 PCDHA7 ABCA12 PI3 OR1N2 LIN7B MAGI1 SLC35A1 IL13 ZDBF2 PDK4 LILRA5 PKP2 TMEM134 ALDH5A1 MMP12 TK2 MEGF6 CHMP4C MMP24 PLXND1 NLRX1 GREB1L GADD45B KLHDC1 FN3K ATG4A LINGO3 PCDHB6 FKBP8 ATL1 MYO1E EEF1A2 DUSP23 CD14 ARMCX3 ARHGDIB SYNPO2L SNORA37 CGREF1 PAQR7 CACNA1C PLBD2 PAM PPP1R13L UBASH3B TMEM102 TMED3 ZNF528 TMBIM1 EFNA5 ZDHHC1 MMP3 TRAF6 ASL SASH1 SLC22A23 FAM8A1 SLC44A3 TBCEL ZNF582 GFOD1 GDNF ROMO1 MFGE8 CYP2S1 TTC36 PYGB CLIC4 DKK3 TACC1 ADHFE1 SCG2 DCAF6 SERPINI1 SDF4 ITGBL1 PTPRF DHRS12 SLC25A4 SLC10A6 FBXO9 AFAP1 PACS1 FAM187B AKAP6 NKX3-1 TMEM175 C16ORF74 ZNF763 KRTAP5-8 CSGALNACT1 SRD5A1 MXRA7 NAAA NAP1L5 BTBD1 SLC2A6 SERPINA11 RNF152 CHRDL2 CNTN1 TMEM181 PSD4 OPCML PALMD RGS11 TNP2 CLPTM1L HLA-DPB1 C3ORF70 SLC22A13 PLEKHB2 ARL6IP5 TUSC3 GABRD ARHGEF4 PHACTR2 LIPG CD163L1 SLC35E1 MGST2 APOD ARHGAP29 GPR35 COMP UBE2H TNFRSF21 BMP1 CRIP2 SRD5A3 NFE2L1 ARSG SHB SLC24A4 PCMTD1 CMTM4 RPS6KL1 TSPYL1 GCKR SLC43A2 WDR44 CRELD1 GPR6 GAS2L2 GDF11 KRT18 SLC26A2 ATP2B4 ARSD CSPG5 FAM50B RNF24 NUMB GLRX RHOJ ZER1 GRK4 SRPX MAPRE2 LRP12 SEC14L2 PHEX ADIPOR1 HTR1D MAPK11 FILIP1L TMEM108 COL4A6 LRRC1 SBDS SGSH PCBD1 TNFRSF13B SLC39A8 GLS STS FBXL16 PCDHB12 SHROOM4 CCDC69 MAN2B2 RAPGEF2 MAP1LC3A UBE2E2 FAM71F2 SLC39A10 IQSEC3 PTGFRN PBXIP1 TAB3 OR5P2 SOHLH1 C2ORF66 PTPRM LYPD2 APH1B FAT1 SEMA4F TMEM120A ATP10D PRKCH GUK1 STXBP1 OR56A5 TMEM50A RABGAP1L MLKL MAPK8IP3 CRYL1 PPIC KCNQ3 SLURP1 MANBA ATRNL1 TMEM232 SLC25A45 GABBR2 UST RNF181 PTPRU MBOAT7 NIPAL1 DEDD2 ZBTB7B ST3GAL5 DHRS1 IGFBP3 TSPAN4 ZFAND2A ARHGAP24 PFKFB4 RNF11 PCDHB5 ALKBH6 TREM1 COL8A2 CACNG6 KCNMB4 PSG11 ZNF391 PSCA WRB GLB1 EPHA8 SERPINA3 LDOC1 CTTNBP2NL MMP10 ROR1 RPRM IVL SLC25A23 ZP2 FAM13B SYT16 KRTAP5-7 PCSK7 FBXO2 TMOD3 AMIGO2 BCAS3 LTBP3 ZC3H12B CTTN MAB21L1 GJA5 CFD SLC38A11 HIST2H2BE NKIRAS2 YPEL3 THEMIS XYLT1 ABLIM1 GNPTG RBMS1 C6ORF222 SLC19A2 ALPK2 TMEM63A C8ORF34 ACER1 WLS SNORA60 ANKRD37 PLOD1 RBP5 TBC1D19 TEX264 ATOX1 C9ORF170 YIF1B EIF4EBP2 ADRA2C C1ORF53 ZPLD1 ARV1 HSPB6 TGFB2 TSTA3 HSPB8 EHF AFF1 RASSF7 ROGDI GPR107 ZFP28 SLC6A4 ENPP4 RNF170 KLF11 VCPIP1 NDST1 TPD52L2 PTPRE FPR3 FSCN2 SAMD3 ST6GALNAC5 CCDC50 GNAI2 ZNF219 NXPH3 FGF11 TMEM86A PIGZ TMEM127 CD55 B3GNT9 PROK2 INTU RHD HAGHL EVI5L DPH3 NPPB KATNAL1 PGRMC2 PCDHA4 TMEM159 FLYWCH1 NPAS1 RAP1GAP2 LMLN REEP3 SPRN HBEGF SLC15A4 LMBRD1 DDAH1 TNFSF10 NLRP6 EXD2 MUC1 INSC ZNF175 PTHLH MRGPRX4 LMF1

		Продолжение таблицы П4. TNFSF15 EFHD1 SLC4A3 PIGV B4GALT1 NTNG2 SRPK3 SGCB DYNC1LI2 GDI1 CDKL4 TSC22D3 PTPRB GPR52 OVGP1 PRAF2 TSGA10 THAP8 PACS2 MOG GPR151 CATSPERG PSPN AQP4 SLC47A1 TANC1 ORMDL3 DCUN1D3 SERPINB7 CST1 RAB26 CALCA RBMS2 TP53INP2 SERPINA1 SLC6A18 NUDT18 TAPBP ZP1 RUNX1 ATP2C1 CD58 TOM1L2 APLP1 TMEM8A TMEM165 DNAH1 OR1D2 PPP3CC SH3BGRL FBXW4 STK38L RASA4 ANXA6 TSPYL2 ABTB2 TUFT1 SMPD1 ANKS1B TLL2 PRKAB2 TBC1D2B QPCTL INF2 HLA-DPA1 ANKRD46 ANK2 GMIP LMBRD2 NALCN MAPRE3 PRLH VLDLR RHBDD2 ITGB6 FHL2 PDGFB CST9L PCDHB2 PHKA1 MAML3 EGLN1 FAM167A RSPO1 ATP6AP1 RAB6B NR1H2 MYCT1 SLAMF8 SPATA22 STX11 AMPD1 MPP2 IFNGR2 EIF5A2 KIF5A PCYOX1 KLHL35 DUSP1 SEZ6L2 DMRTA1 STX7 PRPS1 GALC SIPA1L1 GAMT MRC2 UACA BAD PPP1R16A CYP2E1 FLNB GABARAPL1 PAPPA2 CYB5D2 WDR78 PFKFB3 SCAMP5 MAP3K10 CAMP DDA1 GBA TNS1 PNRC1 KCNH6 IL1RAP KCNJ10 TOM1 ACSL5 ADRB2 TMEM129 OR1Q1 CTSD FKBP1B ASB16 COL25A1 RHCG DNAJB6 KCNK12 MT1X SLC35F3 TMEM63B ARRDC4 SCGB2A1 ZG16B SPAG4 HCN3 ATL3 F8 KCTD9 CST5 BMPER AMIGO1 TMEM41B HES3 DCTN6 KCNA10 PRICKLE2 MVP MRGPRX1 OR51M1 ISG15 B3GAT2 CCDC68 DYRK1B ATP6V0A4 KCTD20 HSD3B7 PHLDB1 JAG2 OR5P3 NXPH4 TAGLN SH3RF2 PSG9 PPP1R2 TUBA4A PCDHA10 NIPSNAP3A INSIG2 ARHGEF37 LATS2 SH2D3A PLXNA2 RORA DENND2C NSF ARHGAP9 PGRMC1 PSAP SH3BP5L SERINC5 HERPUD1 LYN TMEM95 USP6 NAP1L3 INHBA KLF7 LGMN LAMB1 B3GNT4 DDRGK1 CLIC3 KLF8 CDH22 HIST1H1T MCOLN1 PLXDC2 AK4 SORBS1 NPC1L1 C11ORF87 HCCS KCNAB2 SPNS2 ZDHHC9 SAMD14 PIK3CA PPME1 REEP5 KDM4C FOXA1 VNN1 RPL3L CDH1 CYS1 KIFC2 PXDNL SLC4A9 ZNF69 CREG1 LIMCH1 SCN2A CCDC80 FGF2 GNPTAB TMEM173 COL2A1 ULBP2 OPRD1 SLC20A1 SLC27A4 CPNE3 GJB2 EFEMP2 MICALCL ICAM1 ABAT DGAT2 RAPGEF3 ZDHHC23 OR10A3 SLC16A3 CCL28 ISM2 PRR5L ABCD1 TMCC1 ACAA1 THBS2 TM2D2 PRSS23 MPZL3 SPATA20 MRGPRX3 ANKRD29 SMOC1 KIAA1191 GPR146 VAMP3 OR51E1 TMCO1 CRNN HIF1A GRN SLC45A4 TRIM32 SCAMP1 TSEN34 ATP6V1G1 LY6H ADCY6 NPR2 NXF3 CAMK1D KLF14 SPRY3 DYNC1I1 SDF2 NPPC PIP4K2C PCDHA3 COX7A1 NOS1AP RUSC2 PDE11A ABCA4 ZFAND3 RHBDL2 ZDHHC14 KCNC4 VN1R1 TLR4 B4GALT7 OR1F1 ADAMTS13 ITFG1 TUBG2 CBLN3 ZNF517 TXNDC11 NOX1 IFNGR1 DHDH TM7SF3 FAM162A GLIPR1 KLC1 GPR137 NT5C2 ITGA11 MARK4 TTC23L HHIP TMEM219 C21ORF62 NOG RAB11A TMEM30A RNASET2 MORC4 GALNT11 TOR1AIP2 SLC35E3 OR1J4 CDC42BPB ABCA7 SYT17 PLD3 CLEC4G CRTAC1 CDNF ZFHX3 UNC93B1 FAM107A PCSK5 TMEM179B SERINC1 EFNA3 CDCP1 EGLN3 PON2 UNC119 GPX3 TM2D1 TAPT1 PIP5KL1 SLFN5 TIMP2 PTP4A1 SHC4 PDE8B ABLIM3 SNX24 P4HB STC2 COL10A1 CST2 YIPF5 SAMD9 PI16 RNF19A COL5A1 SAA2 DDR1 FKBP9 MOAP1 PMEPA1 TNFSF9 PPFIA4 CES4A RNF13 OR10Q1 PRICKLE1 HES4 MYOZ1 NME3 WNK1 SLC2A9 CDKN2A DNER WNT9B HGSNAT SPRYD3 HAS1 TRPS1 C19ORF18 DOK7 TTC9 STK38 NPL FANK1 SLC4A11 TXNDC17 AR SLC38A7 SPINT2 SCG5 KLHL3 HSPG2 SYTL3 ATP6V0E1 NDFIP1 PPP4R4 SFRP1 STXBP3 DAAM1 FKBP1A TMED4 TRIB2 B3GAT3 SLC10A3 C12ORF57 VDAC2 CSF2RB ELMOD1 DACT1 FCHSD1 PNPLA2 ATRN HAPLN1 SGPP1 CSF2 GPLD1 MMP9 AMZ1
GSE55118_middle_vs_young	177	MTHFD2L FER1L5 TAOK3 TMEM19 SMC3 BBS7 MYADML2 UBXN4 PRPS2 SLC17A3 PHLDA1 TMEM87B FGFR3 ARL6IP6 TSN TRMT6 SYTL1 RBM6 TDRD10 CAV3 LRRC42 TANK TACR2 OPN3 KIAA0232 DNA2 ZNF479 PODXL RAMP3 C10ORF120 AIF1L DPRX RAVER1 OR10C1 AJAP1 DCAF12L2 URB2 CDH3 ABHD5 LMNB1 ACADM ZNF365 KRTAP10-9 NUPL2 CLDN3 C1ORF189

		Продолжение таблицы П4.
		OR4D11 ACTRT2 CLCN1 STAG1 C16ORF71 SFI1 KLF5 CDR1 CHRNB3 TCTEX1D4 PI4K2B H2AFV HIP1R FAM124A HNF1B CD8B ATXN1 SHISA7 ATP8B3 SFMBT1 MPRIP DEK TTC9B LMO1 RAB18 POLD3 COMMD6 SNORA71C TSFM BHLHE23 DEFB129 PHLDB2 KLK3 ASTL ACTR3C RRN3 SUSD5 TUBGCP3 TOPBP1 MFSD6 MDGA2 ZYG11A LYPLA1 CALML4 KLF16 CAPZA2 PCMT1 MARK1 THBS3 MBOAT1 LY86 HAUS6 PTGES3 ARHGAP33 MERTK RHOA TMPRSS6 OLFM1 RPL13P5 RCC2 PAXIP1 TH LCK KIF21A ABCE1 TGFBR1 TFF2 LENG8 SCGB3A1 ERI2 VAV2 BCOR EIF2AK3 HMGB2 FAM120C PARP1 ZC3H13 PTMA KIAA1324L CD163 RFWD3 ALOX15B GPR137C OR3A3 NQO1 TFDP1 LCE3D HES6 CCDC82 XPO1 SSH1 ABCB10 PPP4R1L SACM1L GPSM3 JARID2 ZNF367 SPNS3 SERAC1 ZNF205 NRIP3 PPAT HSPH1 UBA2 SMC5 GLB1L3 PLLP ZNF680 OXSR1 CXCL5 AP1M2 SPRR3 CANX FCN3 PTPN3 KRTAP10-10 CCT5 PIGW FOXD1 C9ORF40 KIF21B FEZ2 LTA CCDC58 TM4SF5 USP1 FMN2 CDK10 GNL2 KRT32 SMCR8
GSE55118_old_vs_young	207	OTOP2 ACOT12 CNGB1 SLC15A2 ATXN10 CCDC34 CMPK2 PCGF3 LARP7 ZCRB1 KRTAP5-2 MRAP TRIM29 NIPSNAP3B FTMT TFR2 POM121L12 ECEL1 CLDN6 ENHO TRPV5 COLEC11 CAMSAP1 UNC5CL LRTM1 CYP19A1 TOMM20L MUC2 GLDN KRTAP6-2 HLA-DOA TCEANC ZBTB8OS TCFL5 ORMDL1 COL19A1 SMCHD1 FRS3 OR10H1 KRT31 CGRRF1 CHIT1 GAL OR51B6 ARGLU1 REEP1 EBP SLC25A15 PLXNA4 MCF2L BLNK SLC29A4 CCL18 COL11A2 BPNT1 ST7L LIAS RNF216 ZNF430 RIPK3 TTC39A DBI C1QTNF6 TTL SCT TMEM50B PLSCR1 ESCO1 TMEM38B FAM184A SLC5A10 PATE1 CPLX2 ZFP2 WFDC2 NTNG1 VSTM2A PGR ESRP1 TNFRSF18 TRPM3 GPR17 FFAR2 SYPL1 KCNV1 NCK1 RPP25 LRG1 GPC3 GSG1 AZI2 KLC2 NHSL2 PFDN4 ALAS2 TERF1 DLK1 HSPB7 SESTD1 UBR4 TRIM62 BRWD1 STEAP1 ACTR3 ACTN3 DNAH14 MALT1 FTHL17 SH2D1A PROM2 OR1E1 STAG2 ATF3 DDX27 AMN1 LCE1B RAB37 ACBD5 SAMD13 NOVA2 INTS8 GRIN2C SIGLEC14 HLA-DPB2 HLA-DQB1 PABPC3 GRHL2 MSX2 SCUBE1 PGLYRP2 SLC22A1 TNFRSF4 KIR3DX1 HSPA6 ADAM9 MATN3 LIG4 RNFT2 OR7C1 OTP NDOR1 VMAC CSMD1 WASF3 SNX14 SHMT1 TRPM5 UBE2G2 LIPM PRKAA2 DNM3 EPPK1 TREX2 TSPAN15 CCR1 SCPEP1 C1ORF194 COL4A4 OR10G8 VGLL2 PRRG2 GPR50 BRSK2 ABHD3 TPO SLC30A6 OR5A1 WNK3 PRKY ABCG5 EFCAB6 AFMID COX6B2 DISP2 ANKRD12 ITIH1 DNASE1L2 IGFL3 RNF212 PPP1R16B C1ORF127 SLC38A1 MLANA DENND4C MMP25 SEC14L4 ART3 CISD1 KRTAP5-5 RAB27A SLC5A2 CLDND2 DTWD1 ALDOB SPAG7 NDUFA10 KRTAP5-10 MED22 CD300E TEX101 TDP2 NPFFR1 TTC16 ATMIN ZNF420 CACNA1I GPR15

Таблица П5. Сравнение дифференциально экспрессированных генов (пониженная регуляция) для доз 5 сГр и 2 Гр в сравнении с датасетами EMTAB2086_70_vs_30, EMTAB2086_80_vs_30, GSE55118_middle_vs_young, GSE55118_old_vs_young.

Пересечения	Всего	Гены
24h_2Gy 24h_5cGy EMTAB2086_70_vs_30 EMTAB2086_80_vs_30	59	GINS1 ORC1 H3F3B CDC6 NUP88 DHFR TIPIN DNAJC9 TCF19 MCM10 ZWINT UBE2T HNRNPD SRSF7 TCERG1 TXNRD1 CDC45 MCM4 ODC1 RAD51AP1 ESCO2 CDCA2 GATA2 EXO1 BEND3 GINS2 CDC25A E2F8 GINS3 SFXN2 RFC3 RPA2 SMC1A TMPO MCM3 SNRPD1 CDCA7 COQ3 RFC4 DIRAS3 RFWD3 RFC2 PRIM1 ATAD2 DNMT1 STIL POLE2 SRSF1 FEN1 ZNF367 PKMYT1 RRM1 WDR76 SRSF2 DTL RAD51 MCM6 UHRF1 TOP1

Продолжение таблицы П5.		
24h_2Gy EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_middle_vs_young	1	TLE3
GSE55118_old_vs_young 24h_2Gy EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30	1	CENPO
GSE55118_old_vs_young EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_middle_vs_young	1	ZMAT4
24h_2Gy 24h_5cGy EMTAB2086_70 _vs_30	1	RIMKLB
24h_2Gy 24h_5cGy EMTAB2086_80 _vs_30	59	G3BP1 CENPQ EPS8 BRCA1 TRA2B SRSF6 ID1 FUS PRRX1 LANCL2 CENPL BARD1 GREM2 BUB3 CDT1 SCLT1 CCNE2 CLSPN RGS12 SLC7A1 EBNA1BP2 DEK MEF2C TIA1 SKP2 TSEN15 LSG1 MASTL ANKRD11 FBXO5 WDR4 CENPN GABPB1 DKC1 GART NFIC ILF3 SLC7A2 TBL1X ID4 PPM1B CBL GINS4 GNPNAT1 RRM2 PPIF RBM22 CHD4 LRRC59 HSPH1 TMEM220 EWSR1 FERMT1 TJP2 CCT5 RAD21 ORC6 SAE1 MAT2A
24h_2Gy 24h_5cGy GSE55118_middle_vs_young	3	JAG1 RRBP1 WASF2
GSE55118_old_vs_young 24h_2Gy 24h_5cGy	1	OXTR
24h_2Gy EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30	102	ARRB2 LMNB2 BIRC5 EXOSC2 MSH6 CDK1 RACGAP1 CDCA4 MAD2L1 C4ORF46 AURKB SSRP1 CHAF1A FANCA NCAPD3 KIF4A RANBP1 TYMS DNA2 NDC80 OIP5 CCNA2 GTSE1 PSRC1 CDCA5 TDP1 LMNB1 SPAG5 TACC3 MCM7 PRC1 SMARCA4 CEP55 MCM2 POLE MKI67 CDKN2C CCNF NUP205 KIF22 POLD3 SMAP2 RFC5 POLA2 SPC24 ESPL1 DEPDC1B SMARCC1 NUP214 EZH2 CHEK1 NEIL3 KIF11 ASF1B E2F1 CDC25C KIFC1 DCLRE1B POLA1 NR2C2AP OAS3 WWC1 BLM NCAPG2 KIF2C SPEN CENPA PLK4 H2AFX HAUS8 PBK EXOSC8 SHMT1 TRIP13 HMGB2 ITGB3BP PARP1 SKA3 NCAPH SHCBP1 CDCA3 MND1 HELLS FANCI RAD54L SORD SPC25 MXD3 HJURP RNASEH2A FAM83D CHAF1B HIPK2 GMNN DSN1 C1ORF112 SNRNP40 KHDRBS1 CASP2 HIST1H4C NUSAP1 CDCA8
24h_5cGy EMTAB2086_70	8	

		Продолжение таблицы П5.
_vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30		
GSE55118_old_vs_young 24h_5cGy GSE55118_middle_vs_young	1	ZNFX1
EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_middle_vs_young	6	UCK1 VAC14 ISLR SCARA3 EHMT2 PATZ1
GSE55118_old_vs_young EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30	6	NEFH DET1 SF3B3 ZNF385D PLK1 ACD
GSE55118_old_vs_young EMTAB2086_80 _vs_30 GSE55118_middle_vs_young	3	ZNF711 VASH2 LDB2
24h_2Gy 24h_5cGy	196	CD44 SAMD4A SLC7A6 MIER1 IRX5 PAPSS2 DLX2 CDKL3 AP3M2 TPM3 ATXN7L3B POLE3 PTK2 GCLM SON ALCAM DYNC1H1 FGFR3 PDP1 FGF1 HSPA8 PICALM HP1BP3 RBM6 NMNAT2 CSRP1 NTM NEDD4L RCAN1 FAM120A EIF2S1 MCFD2 CTNNB1 CD83 WNK4 SAFB2 CCND1 DNAJC1 FAM107B WSB1 FCRLB CDH11 ADRA1D MALL B4GALT4 TNFAIP3 ARGLU1 LRRFIP1 PPP4R1 C3ORF52 ABCD3 UBASH3B CITED2 FLT1 SERPINB8 YWHAG TMEM68 HEATR5A ANGPTL4 SLC31A1 FOXC2 CLIC4 YRDC IPPK LRP8 GLIS3 PHACTR2 SYNCRIP TRA2A SLC30A1 RASL11B NCOA1 MPP5 FGF5 PHLDA2 BZW2 GLI2 BICD2 SPAG1 TM4SF1 PURB KBTBD2 MEI1 ARPC5L LCP1 CFLAR TBRG1 WDR37 SH3RF1 CLDN1 GABBR2 GNB1 PDCD1LG2 CALD1 IGFBP3 ARHGAP24 ACTN1 RBM25 PLAUR RHOBTB1 SRRM2 SLC16A1 PDLIM5 XYLT1 PVR PNP ACTR2 FRMD3 VEPH1 AIDA TIMP3 ST3GAL1 RBM24 SLC25A32 HBEGF FOXC1 DYNLT1 DUSP2 USP10 FGD4 RNF145 MYO10 ASPH SERPINB2 MTHFD2 CDK6 TUFT1 SH3KBP1 VEGFC ABCE1 DUSP1 CYTH2 EREG PPIA TMEM106A TES BCOR INHBB ARRDC4 SRP19 TXNIP FAF2 IL6 HMGA2 TMEM154 EIF4G1 CREB5 KCTD20 GAPVD1 PLEK2 LYN RNFT1 TAF13 GTPBP4 SPTLC2 S1PR1 ANKRD13C FOS DENND3 ULBP2 SHROOM3 SRPRB ETS1 CAB39 SSTR1 IL7R VCL EIF2AK1 SERPINE1 MAP1B CAP2 GLIPR1 NCALD WWTR1 SLC38A1 NOG NEDD9 ETV5 CXCL5 SETD7 RBM8A S1PR5 FOXP1 NES SHISA2 ENC1 F3 C6ORF106 WNK1 DLX1 JUN TTC9 RPS14 NRG1 CLCF1 CNST
24h_2Gy EMTAB2086_70 _vs_30	1	PCDH10

24h_2Gy EMTAB2086_80 _vs_30	55	Продолжение таблицы П5. TPX2 BAZ1B ANLN POLR1E HNRNPR PSMC3IP DIDO1 AURKA PRIM2 PAQR4 BRD4 PDSS1 HNRNPA0 TCP1 LMAN2L MELK CHD1L CA12 STMN1 CKS2 DEPDC1 KIF23 CDK2 CKAP2L CDC23 GJC1 CENPI PMS1 SFMBT1 HMGB1 DARS2 ARHGAP11A NUP153 DBF4 SLBP USP13 HIST1H2BN FN3KRP RIF1 ERCC3 SKA1 PRPF40A HNRNPAB KHDRBS3 NVL PDCD11 NHSL1 EXOG ERCC6L PIGW NUDT15 TULP3 TTK NCAPG AMD1
24h_2Gy GSE55118_middl e_vs_young	4	HES1 THRA PYCR2 CCDC22
GSE55118_old_v s_young 24h_2Gy	2	SMTN IYD
24h_5cGy EMTAB2086_70 _vs_30	1	MBD4
24h_5cGy EMTAB2086_80 _vs_30	27	GNL3 ING3 LARP7 RAD18 PTPN2 NR1D2 SRSF3 DIAPH3 HSPA14 MPHOSPH6 STIP1 SLC35D1 HAT1 CCT2 MED6 AADAT IDH3A CSTF2 NUP160 ABHD3 GPD2 RSRC2 POLR2C SMARCA2 NUP43 PITPNB UBXN2A
24h_5cGy GSE55118_middl e_vs_young	1	MYOCD
GSE55118_old_v s_young 24h_5cGy	3	GMPPA ABL2 AMOTL1
EMTAB2086_70 _vs_30 EMTAB2086_80 _vs_30	709	CEP250 PIGX TUBD1 RTKN2 TKT BRIX1 PELI2 DAZAP1 GPSM2 NSMCE4A TAF9B CCNB1 CCDC97 TOP3A SLC4A8 RCL1 LRRN1 IPO9 RRP7A YEATS4 SORL1 NOC4L NFIA MNS1 HMGN1 NAT10 DMC1 WDR34 RPS6KA5 CCDC34 CDC25B NASP GPC5 CHRNA5 BCLAF1 KNTC1 ROR2 HIST1H1E FOXM1 VAT1L IPO4 DUS3L ZSCAN16 FAM162B THADA PRPS2 SLC9A9 POGZ HSF2 ZNF334 LDHB PHF7 TTLL4 ACTC1 SUV39H2 HIST1H2BL SETMAR LIN52 IL6R HPS4 FANCC L2HGDH NQO2 CNOT6 HIST1H1A UNG FKBP4 SF3A3 NFYA HCFC1 KIAA0586 ACTR5 LMO4 POLD2 HIST1H4I ARHGAP42 SNAI1 MTHFD1 SNORA74A CENPJ PAFAH1B3 GRWD1 PHB2 UMPS POC1A ADCY3 CCDC77 MRTO4 TTC30B CNDP2 FST ARHGEF26 GTF3C5 ZNF254 RBM26 SNRPC HIST1H4L DCLK2 HIST1H3E NUP85 POLR1A TSHZ1 HAUS4 HCFC1R1 SEPHS1 FAM49A NUP133 HOXA5 C3ORF14 GABRE H2AFY2 PRDM6 FOXRED1 LRRC61 PRKDC PSIP1 EXOSC3 CHTF18 TOX POP7 ANP32A TRAIP ERCC8 BCS1L CDK4 PRMT1 MAB21L2 MCM5 ECHDC3 TMEM106C CLN6 SRRT GEMIN4 ZNF551 TSPYL5 CDK16 KAT5 SLC19A1 XRCC1 TRIM14 ENPP2 SLC7A11 APEX1 CEP72 LCMT2 SPTLC3 TOMM22 C19ORF48 MRPL9 NUF2 HIST1H2BE ARID2 SP4 FSD1 ST6GALNAC3 HMGXB4 HIST2H2AC UPF1 COLEC12 WEE1 CTTNBP2 HMBS EBP C20ORF96 BNC1 NDE1 NUP35 URB2 AAAS IQGAP3 NCOA5 SLC25A40 HIST1H4B ADARB1 INTS7 SLC12A7 ARHGAP32 MDC1 PFAS PPIH AXL TFAM PHC1 AKR1E2 RTN4IP1 PTGER2 HAUS1 FAM83B PKN3 TRPC5 HMGN2 TXLNG PXMP4 LIAS HOXA2 HIST1H2AM TNRC6A RFT1 POLR1B RBM14 SF3A1 CPXM1 TMED8 TFAP4 UNC5C MTMR4 HIST1H2AJ CCNB2 HIST1H4D SMAD1 ZNF142 LRRC49 CPSF6 CENPW BRD7 DTYMK PRPF8 HIST1H2BI GNE PLSCR1 TBL1XR1 PLEKHG4B APOLD1 RBBP8 TMEM39B RNASEH2B NIF3L1 PHF2 TTI1 RBBP7 SYTL2 SRGAP1 SP2 DPF1 HPDL MRPS31 LRRCC1 IKZF4 TUBGCP4 RALGPS2 GUF1 GUSB LIG1 HYLS1 HIST1H3C CHEK2 TMEM97 SPA17 CAMK4 TRIM28 PTPRN HTATSF1

		Продолжение таблицы П5. ERLIN1 SLC29A1 DCPS LIN9 TIMELESS NUP107 HEATR6 INTS2 LRRC8B MBNL3 KRT7 RPA3 HIST1H2AB H2AFV KRT19 SLFN11 SLC25A10 ADAMTS3 ALDH1A3 SETD1A EME1 BUD13 CENPP MIS12 NONO ZC3H4 ELAVL1 RPP25 PDGFRA DOK5 AGPAT5 LSM2 NOVA1 TBRG4 HDAC1 RGS17 ASF1A WRAP53 C17ORF53 UPF3B POLD1 GSTM5 APEX2 PYGO1 MT1A SNRNP200 HOXA6 ALMS1 HIST1H1D MLH1 UBTF HIST2H2AB R3HDM1 MKS1 LONRF1 NXT2 FAM111B NARS2 HIST1H1C CIDEB HIST3H2BB B4GALT5 HIST1H2BH HIST1H2BO HIST1H4A AMOT USP28 HIST1H3J AUTS2 MCM8 USP39 NDP MID2 SIVA1 GMEB1 IL1R1 GEMIN5 PASK TCOF1 NUDT21 ZNF503 KCNE4 NEK2 TRMT5 CYP1B1 SMAD6 ZNF22 PSD3 SAFB FANCG C10ORF82 PDE3B LBR RPL39L KLF3 XRCC2 B3GNT5 C1ORF220 GPHN PTN RAE1 MTA2 ERI1 SENP1 TUBGCP3 ZNF473 HMGB3 PTPN18 SYNE2 NETO2 NRM GOLM1 FLVCR1 SMARCD1 NRP1 MCRS1 NR2F1 ZFP3 FASN FAM129A KCNIP3 TTF2 SFPQ SMPD4 GPX7 ZYG11A ZNF454 TMEM18 SARS2 NUP93 CTDSPL2 APCDD1L CALML4 THAP10 FAM192A PHF3 ZRANB3 DVL2 HIST1H3I SSBP4 ZNF141 DNAJA4 CACHD1 HIST1H2AE SLC25A5 RBM23 CNKSR3 HSPBAP1 CDKN1B PRTFDC1 PRPF19 HIST1H3B MBOAT1 CENPH FANCL KIF18B MRPL48 NNAT BCL9 ANKRD28 DHX33 SFSWAP HIST1H2BC SNRPA ZMYND8 VSNL1 EFTUD2 HSPB11 DHX30 CPSF7 EEFSEC TCF12 SIPA1L2 SNRPF EMG1 HIRA DSG2 HIST1H2AL GLB1L IL31RA MYBL2 SMYD5 SMC4 MID1 KHK HOXA3 EXOSC9 CPNE2 USP54 MAP2K6 PAXIP1 CDCA7L EARS2 CCDC138 CKS1B HIST3H2A WDR17 MYPN NHP2 FAF1 NPRL3 ZFHX4 TEAD2 SLC25A13 MRRF GAS2L3 CWF19L1 SF3A2 SRBD1 HIST1H2BB TMEM209 XRCC3 GDAP1 GPATCH4 MMACHC RBBP4 UNK B4GALT6 DOLPP1 PHF19 XKR5 CCDC134 DENND4B CCDC86 HOXC5 SPATA6 CRISPLD1 RUVBL1 C19ORF44 SPIN4 THOC1 AGK NSL1 RAD51C IRAK3 PAK3 SFMBT2 GALNT12 HIRIP3 HIST1H3G STK33 HNRNPUL1 SIN3A RNFT2 AQR CABLES2 MAT2B PYGO2 CSE1L CAMK1G CDC20 DOK6 OSGEPL1 ERI2 NHEJ1 RRP1B GLI3 TADA2A H2AFZ TADA1 CHKA BUB1 HOXA7 CNOT10 GTF3C2 EXOSC5 HIST1H2AI TXNDC16 CTCF TROAP PTBP1 CDC7 EEF1A1 ZC3H18 SF1 ZCCHC14 DHX9 RIN1 PHF5A SLC37A4 ARSI TK1 PTMA C1ORF21 PRKAR2B PHIP HIST1H1B EPB41 SMC2 RMI1 PRPF4 TMEM155 TAF1A HIST1H3H ARL9 DSC3 COMMD4 TBX4 TTLL12 UBE2S TLE1 MAOB BCL2L11 IGSF10 B3GALNT1 PLCB1 SLC5A6 NOL12 NOD1 RNF26 HIST1H2BG AKAP1 SUV39H1 FOXRED2 TIMM10 NFIB HNRNPF LIFR UBE2C NQO1 ZSCAN2 AP1G2 TSEN2 DCAF15 MYO19 RTTN USP21 HIST1H2AK WDR35 ZNF300 FDXACB1 RIBC2 CAD ZBTB9 MED1 ATG4C CXCL12 HADH HNRNPM CORO1A COMMD10 MDK DBF4B THNSL1 NCAPD2 MRPS27 GIN1 STEAP2 WDHD1 H1FX ELF2 HOXA4 WNK3 SLFN13 KHSRP FBL KIF15 ZNF280B STOML2 LAS1L FAT3 ZNF273 MSH2 TMEM201 PHF14 OLFML2B PA2G4 THOC6 PRMT3 ZCCHC8 ARID3B RNF214 KIF24 UBA2 HIST1H2AH HAUS5 CYB5RL SPATA5 PPP2R5D WDR5 OXNAD1 NOL9 CD320 ANGEL2 MDN1 CIT REEP4 PAICS PTBP2 TCF7L2 CACYBP FLOT1 QSER1 NOLC1 ZMIZ1 PKDCC FRZB SART3 VPS52 HIST1H2BM KIF20A NOV GPM6B TMTC4 RPUSD4 CPSF4 BCL3 SOX11 ZBTB44 QRSL1 ZNF714 DIS3L HDGF CBX5 GPR87 FANCE CCDC89 PEG10 GPC6 HIST1H3A TOE1 RECQL4 RELN LIG3 B3GALT1 MLPH FAM110B CEP57 HIST1H3F ANP32B HNRNPL VSIG10 CDKN3 PGD DLEU1 IQCC CCDC58 GCNT1 CDKAL1 PINX1 GGA2 COQ2 MAD2L2 SEMA4C SKA2 TRAP1 CENPM FANCB CENPF PCNT PTCH2 USP3 DCLRE1C PRR3 CNOT6L PCIF1 HIST1H2BF
EMTAB2086_70 _vs_30	2	ZNF589 NTNG1

GSE55118_middle_vs_young		Продолжение таблицы П5.
EMTAB2086_80_vs_30 GSE55118_middle_vs_young	29	IFT122 PTCD3 PLEKHG4 MTR APOBEC3F G6PD GAL3ST4 ID2 NUDT13 NLE1 HGF IFT46 ACACA THAP11 CHD3 EFCAB7 RPL22L1 FES GALM PTCH1 ZMYM3 ZNF618 MEN1 CC2D2A ACAD10 RNF40 TBCD SELENBP1 PRMT7
GSE55118_old_vs_young EMTAB2086_80_vs_30	6	GABRA5 WARS2 NEK4 DOT1L PLCXD1 TAF6
GSE55118_old_vs_young GSE55118_middle_vs_young	37	OR5L1 TRPM6 LYPD4 FOXP3 ZBTB48 NR2E3 GUCA1B CDHR5 KCTD13 AGER TMC6 OR4K14 C7ORF61 POLR2F BCKDHA NPLOC4 ZFAT C11ORF86 TRPM8 OR56A1 GRIPAP1 MUC7 MPPED1 TP53INP2 MAMSTR PDGFB CYP2E1 EFHC2 INPP4B TBC1D10C OR6Q1 BANP VSX1 SLFNL1 PRKAR1B ARHGAP6 TEX13A
24h_2Gy	134	TLN1 TMX4 SRPK1 RELT PALLD TEK SCUBE3 GRB2 ATOH8 KIAA0100 PTP4A2 XRN2 DLGAP4 EPX C15ORF32 ZNF275 NUAK1 NCOA3 KCTD10 FOXL1 PSTK C1ORF174 SURF4 SEL1L2 PDE4D ACAN VCP CD86 CBLN2 MAPK1IP1L ACER3 PTTG1IP SLC17A6 CDK13 TMEM43 AMMECR1L C3ORF70 EHD4 NRG3 THBS1 ACSL1 C9ORF3 UXS1 ZCCHC17 CMTM4 MOBP KCMF1 FKBP15 HEY1 FABP6 E2F2 UBE2Z RAPGEF2 RPL35A BAG5 PDCD1 NUDCD3 ATP10D TMEM50A SPRY4 SHISA7 ZNF789 HOXC8 DOCK7 ARMCX4 SPATA8 TWIST1 CHST3 CKAP4 KANK1 DCK KCTD15 NLRP3 CHSY1 NXPH3 RGS16 LYPLA1 DEFB116 RAPH1 VAMP1 KCTD5 WIPF3 CCDC81 CALR PDPK1 STX11 MYH11 NDUFA4 PKP4 SIPA1L1 CDC42 PKNOX1 CCNJL OSBPL6 LEMD3 ADPRHL1 CTGF ING2 SEC23A CLSTN1 SLC11A2 COTL1 LATS2 TPM4 MB MAGI2 RBM42 CCDC80 RHOB DIAPH1 AKAP9 ASB6 ICAM1 NHLRC4 CDK5R1 RASD1 DR1 NIPA1 ATF6 LMO3 ZNF470 LRRC3 INSR TSR1 CDC42SE2 TMEM132B PPP1R14C FOXD1 STMN4 FZD1 FKBP9 KLF10 ALDH9A1 FMN2
24h_5cGy	124	PEBP4 PAIP1 ACBD3 STK17A ITGB1BP2 ALDH18A1 UFM1 RGS4 TRIP12 ATF7 ARL2BP GNB4 RPL4 COQ10B KLHL9 ENTPD7 SEC63 XRCC4 TANK DNAJB4 SPAG9 CORO1C PTGS2 ELF1 NT5E SLC30A7 PGGT1B MAS1L UBE2L3 TSPAN31 ELK4 KDM4A MYBL1 VPS35 TTC19 KRT72 PPP3R1 STIM2 ACOT11 RAB6A TMX3 ZNF544 LRP2 PI4K2B ATP2B4 PWP1 PDE4DIP SMG7 EHD1 KIRREL3 IMPA1 HADHA EFR3A NOL10 NDEL1 GJA5 HIST2H2BE STARD7 VPS45 B3GNT2 STEAP1 NUFIP2 TOMM20 ID3 SMAD3 ATF3 ZC3H7A DCBLD2 SRI ZNF175 WDR43 GOLPH3 NCEH1 ENAH ZNF410 SSR3 ZBTB43 NR3C1 EMP1 CDC42SE1 TMEM47 MPZL1 DCAF7 KCNH6 TMED2 SGMS1 CPPED1 CCND3 PSME4 UBE2G2 NSUN2 DTD1 PGM2 ITGB1BP1 PLXNA2 CAPZA1 FPGS MAP3K2 MBNL1 DCUN1D4 STX12 TDG IQGAP1 HSPA5 ZDHHC23 MICAL3 BICC1 CDC73 NFATC2IP MLEC PDK1 ZFR CAMKK2 SHC4 ELL2 YKT6 BECN1 SRSF5 SERBP1 UBE2D2 SCG5 PHTF2 INPP5A BIRC3
EMTAB2086_70_vs_30	63	PKNOX2 ALDH3A2 MAOA SLCO2A1 GPR19 GCA RARB HOXB8 KALRN ALG9 CARHSP1 MDGA1 CCDC3 CHD7 CDON ENOX1 UBE2O PID1 PIWIL2 ZDHHC13 SYBU CYB5R2 FLRT3 MED12L ZCCHC2 PTGFRN PFDN4 ZNF814 CDKN2AIPNL DPPA4 PDK3 TMTC2 DRD1 RAB42 APOL4 RNASE2 REC8 PITX2 SNAP25 GSTO2 DES KIF21A PRUNE2 FGFRL1 IVNS1ABP DNM3 PGAM5 FAM13C EPHA3 SESN3 NAP1L3 ADPRH SAP30 ENDOD1 SNORA70B U2AF1L4 KCNH5 RAVER2 PTPN3 STAC KCTD12 GATAD2B MBOAT2
EMTAB2086_80_vs_30	1449	PNMA1 TMEM216 HAUS2 EIF2B5 UTP20 KLHL13 TACC2 ERAL1 CNBP WASF1 BYSL ABCB7 ZNF646 NHLRC3 NUP155 LCORL RBM15 MSL1 EP300

		Продолжение таблицы П5. CCNI CRNKL1 CSTF1 IMP4 DHX35 CDK14 ZSWIM1 G2E3 PARN PNPT1 NDUFAF4 SEMA4D ZNF852 MMS22L HEPH THRAP3 CERK NSMCE2 LYAR TET3 HIST1H4E GSTCD CASP6 C3ORF67 NR4A2 MRPL38 PIKFYVE LONP1 ANP32E MRPL1 PCOLCE ARL6IP1 CHD1 ZNF182 LHFPL2 ELOVL5 DARS ARL4A SAAL1 RIOK1 SMO ACSL3 NOL8 CDK11A USP6NL CCDC66 IMPDH2 ENOX2 SMC3 ATL2 ZNF212 PRDM2 TAF5 DSCC1 PRR16 GFPT2 RBM10 MTRR PLEKHO1 RTF1 GLE1 CHRAC1 ZDHHC6 CTDSP2 RMND5B SSU72 C12ORF65 TIAL1 GTF3C3 BUD31 ZNF280C ZNF484 RFXAP EMP2 BOP1 FRRS1 CCAR1 POLR2B EP400 ZNF232 BTN3A1 HYOU1 C17ORF75 TOR3A FAM98B RFX3 CBLL1 SETDB1 MEIS2 ENOSF1 ARL13B TJAP1 SLC25A35 ZNF239 ABHD2 TMEM99 FAM76B NUP37 PDZRN3 ATP11C TOMM34 ZNF35 NPM1 LIMD1 CARD8 IMMP1L RSRC1 DNMT3B CELF1 WDR19 CNOT1 DDX18 ZNF331 CEP120 IRS1 ZNF24 C21ORF58 ATR MRPS12 GBGT1 DEPDC5 SMAD9 PCDH18 CDK17 SENP7 DPYD PHLDA1 CPEB1 ABI2 NUDT12 SLC38A4 ATF1 POLDIP3 POU6F1 ABCF2 VPS25 WDR6 NFIL3 COX10 WDR62 KIF2A ZNF70 ZNF655 CCDC18 MRPL15 KCNQ5 DHX15 QRICH1 BRD8 TSN WDR12 DCUN1D5 TCF4 NR2C2 NBPF3 NOP58 DOCK11 RHOBTB2 FRYL NOC3L FUBP1 AHI1 RPP14 KIF14 SMPD2 CDH24 TRMT6 PBX1 DUSP18 ARMC6 PXMP2 PRPF3 RBM38 CAMSAP1 TTC21B DGKD MTSS1L ZNF672 NFE2L2 EML5 NRF1 ASTE1 RBBP6 MITD1 MAGOHB MED18 IFI16 GOT2 RAB38 ALG6 NFYC DUS4L TNFAIP6 CCT4 ZNF709 ASXL2 ZNF738 ZNF146 SLC17A9 TPT1 S100A3 MRPS28 SYTL4 ZNF107 BOD1 TMEM170A RAD1 NFRKB C1QBP CADPS2 EEPD1 PCBP1 MEIS1 NSD1 AMMECR1 R3HDM2 C5 TRIM45 RGS20 PDGFD LXN TIGD2 CREBBP DSTYK ZNF649 EIF3D FAM161A SNCAIP SET NAB2 PECR HSPA2 PHGDH XPO4 ICA1L EIF2B2 TRPA1 PLRG1 REXO1 NAV2 KIAA0753 ZNF362 INPP5B GRPEL2 PPID ELF4 DNMT3A CNOT7 SLC7A6OS THAP5 RUNX1T1 ZCCHC10 NOL11 ZSCAN12 C7ORF31 SMCHD1 E2F4 IPO5 HSCB NACA MEX3D GLOD4 SMS NUDCD2 TEX10 TNFRSF19 MRPS9 C21ORF91 CSNK2A2 ANAPC1 SIK2 ZNF681 SNRPG RABGGTB NFATC3 FAM122B SNORA58 FASTKD2 GEMIN6 JAGN1 GNG2 TRHDE SF3B2 XPOT ZNF480 ERH PAK1IP1 PITPNM2 TGFB1 LIPT1 CCDC14 ENOPH1 MPDU1 ZNF713 ZNF530 SPATA2 C8ORF33 SNRNP48 NAA15 ORC5 SUPT16H SOCS3 TMEFF2 ZC3H12C KIAA1841 RUVBL2 ALPK1 ARID1B TTC27 FIGN RPAP1 ZFP1 ABT1 RAVER1 HUNK WDR82 FUT8 FARS2 NUFIP1 ZNF3 NCOA6 ZC3H14 ABI3 ZNF90 SSBP2 CASP8AP2 ZNF75D SNW1 ADAMTS6 LSAMP CWC25 METAP1 BANF1 FAM13A SLC25A15 GPBP1 ZNF215 TEAD4 PES1 PDE7B TIMM8A TRIM24 ZNF608 ECT2 C9ORF64 PTCD2 POT1 USP40 CCT7 MIPEP ABCC9 PPARD IFT74 STK24 CNTROB FH FAM111A MTF2 GSR DUSP12 IRAK1BP1 TMCO6 GGH AMPH ZC4H2 HNRNPH1 ZFP62 HMOX1 ME2 MAN1A1 GLO1 FOXP2 PPIL3 NUCKS1 C17ORF97 U2AF2 TCHP TRMT1 WDR70 CENPE CRABP2 CNTLN C8ORF48 PUM2 BRCA2 ACADM FMR1 CCDC117 HHEX ENTPD6 ERCC4 RAD23A PPP5C HS3ST3B1 BLMH BRPF1 WDR33 PRPH2 HNRNPA2B1 UTP18 DDX31 POSTN AASS SHQ1 API5 SAMHD1 ZNF691 USP46 CCNJ TCEAL7 DHX8 ZC3HC1 SCARNA9L HDHD3 KLHL15 EFHD2 DAZAP2 PIP4K2A ZNF268 MRPL13 SNX5 EEF1D RRP1 TWISTNB SLC25A17 NR4A1 WDR74 GLMN ZSCAN21 CREB1 DCLRE1A TSC22D2 PRPF31 RPS3A LRRTM2 STAG1 DHX38 DBI TRDMT1 TARS2 PDP2 FCF1 ZNF624 ZNRF3 EYA3 MARK2 HS6ST1 EML4 ZNF501 HMG20A CCNT1 WDR53 MPP6 HELB FAIM UBXN11 EVI2B NUDC TMEM126A TOM1L1 ELOVL2 NRGN APOO RFC1 TUBA1C TRNT1 NSUN6 PRDM10 TBX3 PDE7A BTBD11 MBTD1 CWC22 MTFP1 NT5DC2 USP33 SART1 HSP90AB1 ZNF121 HIST1H2AC NCL EIF4EBP1 NID2 EHMT1 VARS SUZ12 MRPS16 MED21 CDAN1 GRPR TGS1 SOCS1 ZBTB10 TCEA1 IFT88 CEP192 TARDBP DDX21 FAM76A POP1 STXBP4 PAN3 MAP3K4 ST3GAL4 ZBED4 MTA1 SETD1B

		Продолжение таблицы П5. GPAM IRF2 OSBPL9 RUNX2 DDX10 ZNF507 KIF13A PPRC1 DLGAP5 LOC339803 CDK11B MECOM DDX17 TWIST2 DNTTIP2 TAF3 GPR85 ABHD10 ISOC1 CDC42EP4 SGK494 TAF8 ZNF594 ZNF560 ZSCAN23 CBX3 ANKRD13A YARS PRDM5 TGFBR3 MED24 AKR1C1 ZNF615 KIAA1586 ZNF496 GTF2I BRD2 SLC2A4RG FAM53B MPHOSPH9 RPS6KA1 MRPS15 EIF2B1 PAK4 C14ORF93 ZNF830 NPM3 ZNF660 OLFML3 CPS1 LZIC SV2A TAF1C CUTC CTDNEP1 VPS72 GTF2E2 ZNF737 LRRC46 NFYB PPM1G ASXL1 XRCC5 RBM39 FAM104B SMARCAD1 ERI3 MRPL42 SIRT1 CENPK HAX1 DUS1L ZKSCAN3 KDM2B TOMM40 TPRKB HIST1H2BD ADNP SNRPB2 RBM15B LARP4 ZNF689 NSMAF EIF3E KLHL11 TXNL4B TFCP2 ZBTB3 TOP2B RPS25 C2ORF69 EIF1AD RNF114 CNOT3 TYW1 MTIF2 UPF2 AGBL2 SNORA16B SCMH1 SFXN4 WDYHV1 SLIT2 BAALC KCTD3 SERP2 PEX12 IFRD2 SNORA71C RRP15 RSL1D1 ADNP2 PLEKHA5 CDC42EP1 PIGC BRD3 WDR3 PARP9 PPP2R3A MRPL30 DEPDC4 SFXN5 HNRNPU CHCHD2 ATXN2L SESTD1 ZNF486 CLASRP CWF19L2 RPS9 ZNF214 LPCAT1 DDX56 RBM28 TRAM1L1 MRPS18B HNRNPA1 KCNJ8 MYBBP1A ARL5A CCT6A EPHB4 XPO7 ARSJ TRIM5 TEX15 ARID1A C5ORF34 HSPA12A REPIN1 SHMT2 TP53BP2 COL12A1 TTC26 ZBTB17 CPSF2 CD3EAP ZBED5 NSUN4 EYA2 DCAF17 ZADH2 GNB3 EFS SLFN12L ZNF519 TRIM68 UCK2 PSPH METTL1 COG7 MYB SMNDC1 CLPB RPTOR LTV1 DONSON BCL2L12 ELP4 PRTG NBN RPL10A OCLM IER2 CEP70 FAN1 MDFIC CCDC59 ZDHHC2 ZNF189 POLR1C MEX3B NID1 SETD2 MRPS35 ZNF85 UGGT1 AASDH KDM4D SMARCC2 TOPBP1 CTNNBL1 MID1IP1 HMG20B KCNAB3 FHL3 SPATA5L1 POLG2 TRMT61B PELP1 CDK5RAP2 KDELC2 DERA CEP135 TPP2 LYRM2 RAB8B GTF2E1 ATAD2B MRPS14 PHLPP2 ARHGAP17 ILF2 AKAP7 URB1 ZNF506 C18ORF21 ZNF202 ACTL6A TOP3B RXRA MAP3K5 LYRM1 TMEM60 ALKBH1 DNAJC22 SCARNA10 GRK6 BMPR1A CLDN11 LIN54 STAG2 LRTOMT BIN3 ZNF197 SNORD15A ACAT1 EML1 PHKA2 ZCCHC4 RSL24D1 DDX27 PLCG1 COQ7 SLC16A7 ZNF43 RBM33 RPL7L1 ZBTB38 UBE2I TBC1D5 UBQLN4 TAF1B SOCS6 AKIRIN2 MRPL24 AFG3L2 BTN3A2 PM20D2 ADAT2 SEMA3A C18ORF54 GNPDA1 ZNF574 ACBD6 EDC3 SMARCB1 CCDC137 MRPL47 C1ORF74 MAP3K14 PPP1R8 RNF34 FAM102B EFNA4 USP24 UHRF2 MRPS17 DCAF12 NKRF CLK2 SLCO3A1 ZNF692 SECISBP2 IDH2 PCGF6 KBTBD6 HMGN3 NOP2 SCML2 PACRGL LARS MAGI3 ZBTB2 TBX2 RPS4X ALG14 C12ORF45 CCHCR1 CXXC1 WDR75 NPAT COIL GATAD2A HAUS6 ARHGEF2 PRKD3 CASP8 NRIP1 N4BP2 CS ETS2 ZNF318 NRP2 MED10 INTS8 EXOSC10 CASC3 GTF3A ERAP1 WDR5B PPARG BAG1 MYNN PRDM4 PAN2 TECR SLC7A14 RRP9 POC5 ZWILCH IFT80 PSMG2 PUS1 PPIG PEX1 RBM19 NAGA RCC2 POGK CROT ZNF138 EGR1 OGG1 CSTF2T ZW10 PSMC6 IL17RE DLG3 ZFP36L2 ZNF343 PBRM1 NAA16 PIM1 VAPA RNF2 DNALI1 ARNTL2 PPP1CC ZNF92 AASDHPPT PGBD1 FAM110A RCOR2 ZNF502 KDM1A SNRPE GTF2F2 RALGAPA2 RRP36 LRIG3 ZNF236 AP4B1 GABRB1 FBLN1 FZD7 MFSD2A VANGL2 LUC7L RPAP3 KIF20B SMARCA5 CPSF3 CNRIP1 PLA2G4A LARP1 INVS UQCRB SUMO3 MEPCE NAA50 MRFAP1L1 PCNA DDX60 SUPT3H SCD CMC1 ZNF518A KYNU SRGAP2 LIN7A SYNJ2 WDR36 SPHK1 ATN1 MYH10 TTC39C CTBP1 XRRA1 ZSCAN29 ADAL STXBP5 SLC36A4 CWC27 NOP16 MATN3 ZNF124 SLC44A1 NFKBID SHPRH NPR3 NAP1L4 N6AMT1 ZNF217 MIDN AGPAT4 LRPPRC PDS5B SALL2 ZNF546 PTER MRPL35 TNKS ABI3BP NOC2L SCAI IQCG ITPRIPL1 MADD PCID2 GTF2H4 ECSIT CDH6 PARP2 MC1R RNF168 THG1L NAPEPLD LCTL CISD2 TNFAIP8L1 MDM1 VDAC3 CASP7 DHX37 PTX3 PER2 PRMT6 AATF E2F5 RBM12B FTSJ3 U2AF1 UTP14A SMAD4 TBP SLC4A7 PFKM ZNF195 TRERF1 THOP1 MTBP CREBZF PER3 ARMC10 TFRC NEDD1 VARS2 RBPMS2 DDX46 ELP3 PRPF38B PELI1 NSUN3 PPT1 BHLHB9 MLLT3 ARAP3 NUP50 KAT2A DYNC2H1 FANCF KRI1

		Продолжение таблицы П5. DCAF16 RNF138 POLQ MRPS30 IQCB1 HNRNPH3 DIS3L2 EGR3 ZNF184 SPIN1 SEH1L ZNF829 RAPGEF4 PRR14 FUZ DROSHA ZNF267 ZBTB6 PRR11 PDIK1L C11ORF58 COASY MAZ SRP9 SRSF4 RSBN1L TAF6L GABPA PBX3 ZNF260 USP37 BRD1 KARS MCCC2 ATF7IP HEATR1 KDM3B POLR2D H1F0 FBXO43 MRPL44 RPF2 ZMYM1 LYPD1 UBE2D1 C11ORF49 LSM7 ICK FAM120C PHLPP1 LYPD6 CUL1 EIF4B DDX55 RPS15 PSMA4 TUBE1 ZC3H13 CREB3L2 PHACTR4 DPH5 GNL3L NUDT2 ARHGEF11 PIK3R4 KCNK2 BRD9 VEZF1 PRDM8 DNAJC14 UBXN8 MRPL18 ABCG2 MSL2 MOXD1 RPIA SMYD4 DPF3 CHCHD3 ZNF701 ODF2 NUP98 NIP7 FASTKD3 MED4 RNF220 CARM1 TNC TYW3 CBFB EBAG9 C1ORF109 RCCD1 GPATCH1 MARCKS SACS ASPM RRP8 SAP130 TTC31 WDR46 TMSB15A HTR2B LSM6 ZNF619 HDX CCNL1 PRSS12 MRPL3 ACAD9 GMPPB CEP78 TFB2M TIMM9 CDO1 UGDH METAP1D GPR137C NUP188 USP31 NUDT11 PHF6 NUBPL ORC2 NUBP1 BRIP1 TRIM21 NFIX SBF2 SLX4 PCF11 EIF5 PALB2 SEPSECS NLN FGF7 SASS6 FHOD1 SP1 DHPS DENND1B LSM5 MGA FAM173B SRSF10 PIH1D2 TTC28 TNPO3 GALK2 CEP97 SYMPK TBPL1 MRPL39 NIN SDC1 DHX57 MCM9 ZNF766 ENY2 ITPA FIGNL1 EMD APH1A COX18 PUS7 THAP7 XPO1 TMCO4 FIP1L1 ENSA CKAP2 DOCK10 FAIM2 INTS9 ACAT2 KCTD6 FNDC3A GLUL ESF1 CEP76 TOP2A KLHL8 DNAJC2 AP4S1 MRPS23 TNFAIP8 ANKRD50 CALCRL C12ORF66 PCM1 NOB1 STRBP HPRT1 TNFRSF1B GTF3C4 EIF2A ZNF584 BAG2 TTF1 PAQR5 ATPAF1 PLAGL2 NCBP1 HDAC2 FOXF1 TMEM109 HIST1H4F DCP2 FGD1 GLYR1 SMU1 TMEM177 KRR1 CDKN2AIP TMEM138 NOL6 SETDB2 SLC25A33 C7ORF26 SEMA3D LDLRAD3 RPL27A DUT KIF18A SLC25A19 DDX54 GDF5 FGFR1OP MED28 EIF3L ADSL DZIP3 TNRC6C ZEB2 METTL7A SCML1 WTAP ETAA1 MTMR2 CHRM2 MLLT10 RPL13 BAZ1A MRPS2 C8ORF59 PPAT THUMPD1 CALM3 ACIN1 ZNF100 PCCA NKAPL TCF3 SOCS2 ATAT1 NUP54 RBMS3 CCDC15 TIMM44 DSEL PRPF38A FBXO4 REL BEND6 CENPV C2ORF42 SRFBP1 LPAR6 MATN2 RNF219 IFT81 RABL3 PRELID1 CTBP2 C4ORF33 INTS4 NAF1 EFCAB2 METTL4 ZNF680 ZNF93 NFX1 MBD3 CTNNAL1 BCCIP TNFAIP2 DYRK1A MMD RBBP5 ILKAP ST3GAL3 RANGRF HMMR NCAPH2 BRPF3 RPS7 ME3 DDX23 ARHGDIA ENPP1 LYRM4 CCDC150 CHERP ZNF462 TTC23 NPTX1 MTRF1 COL6A3 USP22 STARD9 SNRPD3 E2F6 TMEM126B NDUFA9 CTPS2 PGBD2 EYA4 SSX2IP LRP4 CKAP5 PRR12 C17ORF80 ZNF253 POP5 SPATA13 CEP152 BMPR1B SREK1 SF3B4 GTF2IRD1 PSMC3 XYLB UBP1 MORN2 MORC2 RBM27 ALKBH8 WDR55 NUMA1 MIOS KITLG NAA25 ZNF330 CLUAP1 WWP2 FASTKD1 ZNF770 GMPS IFT57 TACO1 ZNF266 CDC5L PDSS2 TATDN1 KPNB1 LARS2 TRIM59 B3GALNT2 CLNS1A HIP1 UBR7 MED22 CHAC2 MFHAS1 ZNF398 PDIA4 HMGA1 GEM ZSCAN22 GTF2H3 ATAD5 C15ORF41 DHODH ATIC PRRT2 PNN RBM43 FJX1 HEATR3 GPR39 DHX36 E2F3 ZNF33A RPL26L1 PXK USP44 FAM180A TIFA ECD MTMR11 SUOX FOSL1 PRKCA ZNF562 SMARCE1 VRK1 ZNF678 LRP11 TRPC3 CDKL1 USP1 ZNF420 DPYSL3 BTG3 RBL1 ATP2B1 INCENP LANCL1 IGF2BP1 PPWD1 HLX KBTBD7 MDM4 PATL1 MAMLD1 RANGAP1 XPO5 CBR1 RNGTT CTSC
GSE55118_middle_vs_young	248	AACS SMARCD3 HSPB1 XAB2 TPRG1L ANKRD13B TCF25 MTMR1 MAP1LC3C FOXK2 PARP16 FGGY HSPA1L LTBP4 EXOC3 MIB2 PRDM16 TBC1D17 ADAM19 IPP WT1-AS OGFOD2 GLG1 ARAP1 UBE2L6 SPATA4 DDX24 HS1BP3 POLRMT PLA2G6 ATP6AP1L CYHR1 COG4 SIRT2 SEMA3G CMA1 TRIL ASTN2 AP4M1 HPS1 GTF2H5 SPG7 NOTCH2 ADD1 PEF1 PTP4A3 EPHB3 ZFHX2 EPSTI1 DNAJC4 BSX CDKN2B ZBTB7C ZNF780B MAST4 ZNF18 SPNS1 CEMP1 PANK3 AGA FBXO15 RECQL5 TP53I3 KDM5B BPNT1 CD276 BBS9 ALOX5AP ADHFE1 TRIM4 UBE3B ATG2A ARHGAP1 SIRT5 SH3BP5 ZNF132 AQP3 GALP IGFBP6 C1QTNF6 CLSTN3 NISCH BBS4

		Продолжение таблицы П5. AKAP12 ARHGEF4 PDE5A SLC16A4 RGL2 MCC HHLA3 LRSAM1 HDAC11 ADAR NSMCE1 CYB5R3 CANT1 MYOZ3 FGF16 MAPK11 BBS5 MAN1B1 TMEM115 CUL7 MBP SLC22A12 PLEKHF1 HDAC10 LDB1 IGSF6 SIAE AMPD2 FBXO6 ZSWIM3 BNC2 SLC45A1 RNF123 AP2A2 BCAS3 BAIAP2 SAT1 ABLIM1 MAST3 GPR108 HDLBP MAPK8IP1 MAP4 DNASE1 NBAS MPPED2 NFE2 MBNL2 USP20 PRSS54 ZNF500 FCGR2B BCO2 CREB3L3 ABHD4 MTHFR KCND1 TMEM45A YTHDF3 SNTG1 FLT3LG LILRB4 GSTA4 UBA7 LRRC17 ANAPC13 DCLK1 ALG1L ZNF81 TSC2 THAP8 APLNR ZP1 CC2D1A SCNN1D ARHGAP28 PPM1M KSR1 CLCN2 CDH18 S100A14 BTBD2 MAN1C1 DISP1 HR PDK2 ZFP30 MEGF8 FBXW9 HTRA3 CYB5D2 ARRB1 SNUPN EIF3F SEMA3B SEMA4B MR1 TLR3 GRAMD1A PRICKLE2 C8ORF31 CCDC8 VPS8 LRRC47 GTPBP8 HPD EEF2 RBCK1 MAP2K5 FAM198B RAI1 EPB41L2 SLC35E4 TAF1 ODF3L1 LEPROTL1 SDK1 MYCBP2 CCDC65 FNDC5 IGDCC4 CD52 KLHL22 PARP10 CSAD RNASEL MAPK3 AEBP1 OR10A3 ABCD1 MLST8 FAM71B ACSF3 FAM3A PRDX2 APOBEC3C ACBD4 SIRT3 ZFP64 DMAP1 IFI35 HFE SMG6 GPR137 ITGA11 MARK4 OAF ZNF337 HAAO SCNN1A RNF125 PCSK5 PIP5KL1 ARSE BRF2 NLGN4Y HOXD9 AHNAK2 ADAMTS5 UNC45A IL2RB ARMCX2 ZNF358 PRKAG1 SNX21
GSE55118_old_vs_young	85	FARP1 ITGA5 B9D1 FAT4 COX15 FGFR1 ITGA3 EPB42 SLC13A4 FGF6 NACAD GABRQ ANKLE2 NCR2 PGLYRP1 PEX26 OR51S1 MCF2L CHGB EFNA5 RALGAPB FLCN MIER2 PRMT5 PLAT ZNF285 FUT3 SH2D7 CPLX2 OGFOD1 NADK LMOD2 STX1B MASP1 TRIM46 MMP19 CDA IL2RG PLXNA3 TPD52L2 WFDC5 SP6 DRD5 INSC MRAP2 LMF1 SPTAN1 CALCA LIPH APLP1 INO80E KCNJ9 C2CD4C SMPD1 ANKRD46 SPEF1 RFX1 CCDC27 CSNK1G2 SEMA7A PRSS3 C22ORF24 ARHGAP23 CABP4 ADAMTS1 FGA WNT2B MAP2 KLHDC10 C2ORF70 ZC3H11A DHDH FLG ZNF575 GH1 C4BPB SUPT6H PANK4 ZNF133 FLNA FXYD3 TNFRSF10D USH1C SCN5A GRIP2

Таблица П6. Сводные данные о биологических, химических и лекарственных базах данных, интегрированных с БД Geroprotectors.org и Radioprotectors.org.

Источник информации	Ссылка	Описание
Химические базы данных		
PubChem [362,363]	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/	Одна из крупнейших химических баз данных в Интернете. Создана и поддерживается в рамках Национального центра биотехнологической информации (NCBI). Содержит более 68 миллионов записей для соединений и более 198 миллионов записей для веществ, включая смеси, комплексы, неохарактеризованные вещества и т.д. Каждая запись содержит полное описание химических и биологических свойств, варианты использования вещества, сведения о поставщиках и т.д.
Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI) [364–366]	https://www.ebi.ac.uk/chebi/~~HEAD=pobj	Химическая база данных со свободным доступом, сфокусированная, главным образом, на малых молекулах. Каждая запись содержит информацию о названиях, синонимах, регистрационных номер(ах), молекулярной формуле и основных химических дескрипторах. Эта база данных является частью проекта Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL).

		Продолжение таблицы П6.
ChEMBL[367–369]	https://www.ebi.ac.uk/chembl/	Подобно ChEBI, но сосредоточена на соединениях, обладающих лекарственными свойствами, либо имеющих лекарственных потенциал; содержит более 1,7 млн записей. Обладает передовыми поисковыми инструментами. Поиск по структуре лиганда, мишеням соединения и другим ключевым словам, доступна в Интернете. Принята ELMB.
ChemSpider [370–372]	http://www.chemspider.com/	Интегративная химическая база данных от Королевского химического общества. Включает в себя 43 млн химических структур из 490 источников данных. Предоставляет информацию о патентах, продавцах и т.д., связанных с каждым из аннотированных соединений.
Базы данных лекарственных соединений		
DrugBank [373–376]	http://www.drugbank.ca	Всесторонний ресурс, индексирующий препараты на любой стадии исследований: одобрены для применения людьми, в клинических испытаниях и экспериментальные препараты. Обобщает влияние каждого препарата на молекулярные мишени. Кроме того, предоставляет информацию о фармакологии, побочных эффектах и т.д.
The Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGKB) [377]	https://www.pharmgkb.org/	Показывает взаимодействие между лекарствами и генами.
Side Effects Data Base [378]	http://sideeffects.embl.de/	Описывает более 4000 побочных эффектов 996 одобренных лекарств.
Therapeutic Targets Database (TTD) [379,380]	http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd	Предоставляет информацию о клеточных терапевтических мишенях, связанных метаболических путях, а также о соответствующих лекарственных препаратах. Поддерживается Национальным университетом Сингапура.
Базы данных метаболических путей		
Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [381]	http://www.genome.jp/kegg/	Ресурс включает различные базы данных химических, биологических, метаболических путей, лекарств и базы данных заболеваний. Разработана в Университете Киото.
The Human Metabolome Database (HMDB) [382,383]	http://www.hmdb.ca/	База данных метаболитов, обнаруженных в человеческом организме. Первый ресурс, посвященный метаболомике; в настоящее время содержит более 42 000 записей.
Базы данных по токсикологии		
TOXNET [384]	http://toxnet.nlm.nih.gov	Содержит различные ресурсы, связанные с токсикологией, с отсылками к оригинальным рецензируемым статьям.
Liver Tox [385]	http://livertox.nih.gov/	Предоставляет данные о сотнях соединений с известной или потенциальной токсичностью для печени.

Продолжение таблицы П6.

Экспрессия генов		
Gene Expression Omnibus [386,387]	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo	Международное публичное хранилище для архивирования данных микрочипов, данных секвенирования следующего поколения, и других данных по геномике; данные депонируются пользователями.
L1000 [388][54]	http://www.broadinstitute.org/LINCS	Проект Broad Institute. Использует компьютерным образом выбранные 1000 знаковых генов, для анализа транскриптома.
Белковые базы данных		
UniProt [389]	http://www.uniprot.org/	Самая большая база аннотированных белков.
Базы данных клинических испытаний		
Clinical Trials [390,391]	https://clinicaltrials.gov/	Крупнейший веб-каталог зарегистрированных клинических испытаний, проводимых в Национальной лаборатории медицины США; содержит более 200 клинических испытаний, проведенных в США и еще почти 200 проведенных за границей. Описывает протоколы, условия, изученные препараты и т.д.
Другие источники		
MeSH (Medical Subject Headings)	https://www.nlm.nih.gov/mesh/	Словарь-тезаурус, контролируемый Национальной библиотекой медицины США.
Reference.MD	http://www.reference.md/	Ресурс, который интегрирует медицинскую информацию от MeSH, Drugs@FDA, FDA Adverse Event Reporting System и т.д.
Коммерческие организации (поставщики химических соединений)		
Chemnet	http://www.chemnet.com/cas/	Компания из Китая; Платформа предоставления комплексного обслуживания по химическим веществам; База данных содержит 300,000 продуктов.
Sigma Aldrich	http://www.sigmaaldrich.com/	Американская компания; производит более 230 000 химических веществ, биохимикаты и другие необходимые продукты; 1,4 миллионов клиентов по всему миру.
Enzo Life Sciences	http://www.enzolifesciences.com/	Производитель из США медицинских и биологических продуктов для проведения исследований.
Santa Cruz Biotechnology, Inc.	http://www.scbt.com/~~V	Разработчик из США продуктов для биомедицинских исследований, проводимых по всему миру.

Таблица П7. Соединения, обладающие сочетанием геро- (согласно БД Geroprotectors.org) и радиомодификаторных свойств.

Вещество (международное название)	**Наличие радиопротекторных свойств/примечание**	**Ссылка**
Amifostine	+	[392]
Lithium chloride	+	[393]
Vitamin D3	+	[394]
Kanamycin	+	[395]
2,4-dinitrophenol	+	[396]
Ellagic acid	+	[397]
Catechin	+	[398]
Carbonyl Cyanide M-Chlorophenyl Hydrazone (CCCP)	+	[399]
Glycerol	+	[400]
Deprenyl	+	[401]
Trichostatin A	+	[402]
Cysteamine	+	[403]
Glutatione	эффект неоднозначен	[404]
Quercetin	+	[405]
Fisetin	+	[406]
4'-o-methyl epicatechin	+	[407]
Cyclosporin A	+	[408]
Valproic acid	+	[409]
Metformin	+	[410]
Rosmarinic acid	+	[411]
Rapamycin	+	[412]
Ibuprofen	+	[413]
Pioglitazone	показано для производного	[414]
Resveratrol	+	[415]
Simvastatin	+	[416]
Caffeine	+	[417]
Nitrendipine	+	[418]
Butylated hydroxytoluene (BHT)	положительный результат на S.Cerevisiae/ нет результата в культуре клеток	[419]
Euk-134	+	[420]
Caffeic acid	+	[421]
Indirubin	+	[422]
Fullerene C60	показано для производного	[423]

Продолжение таблицы П7.		
1,2,3,4,6-Penta-O-Galloyl-B-D-Glucose (PGG)	+	[424]
Carnosine	+	[425]
Dimethyl Sulfoxide (DMSO)	+	[426]
Ly294002	-	[427]
4- phenylbutyrate	+	[428]
Beta- estradiol	+	[429]
Epigallocatechin Gallate	+	[430]
Minocycline	+	[431]
10-Hydroxy-2-decenoic acid	+	[432]
Baicalein	+	[433]
Gallic acid	+	[434]
N-acetyl-L-cysteine	+	[435]
Genistein	+	[436]
Aspirin (Acetylsalicylic acid,ASA)	+	[437]
Quercetin-3-O-Glucoside	+	[438]
Enalapril	+	[439]
A-Lipoic Acid	+	[440]
Doxycycline	в комбинации с вальпроевой кислотой	[441]
Celecoxib		[442]
Ursolic acid	+	[443]
Curcumin	+	[444]
Kaempferol	+	[445]
Melatonin	+	[446]
Ascorbic acid	+	[447]
Polydatin	+	[448]
Sodium Butyrate	+	[449]
Spermidine	+	[450]
Fumarate	показано для производного	[451]
2-mercaptoethanol	+	[452]
Maltose	+	[453]
Trehalose	+	[453]
Cyproterone acetate	+	[454]
Nitroflurbiprofen	показано для производного	[455]
Fenofibrate	+	[456]